



**FACULTAD DE MEDICINA**

**Departamento de Medicina**

**CARACTERIZACIÓN CLÍNICA Y GENÉTICA DE  
LA MIOCARDIOPATÍA RESTRICTIVA IDIOPÁTICA**

**TESIS DOCTORAL**

**María Gallego Delgado**

**Madrid 2016**

Memoria de investigación presentada por:

**María Gallego Delgado**

Para optar al grado de

**Doctor en Medicina**

**por la Universidad Autónoma de Madrid**

Trabajo dirigido por:

**Dr. Pablo García-Pavía**

Profesor Honorario. Universidad Autónoma de Madrid

Médico Adjunto del Servicio de Cardiología

Unidad de Insuficiencia Cardíaca y Cardiopatías Familiares

Hospital Universitario Puerta de Hierro

y por:

**Dr. Luis A. Alonso-Pulpón Rivera**

Profesor titular, Facultad de Medicina

Universidad Autónoma de Madrid

Jefe de Servicio de Cardiología,

Hospital Universitario Puerta de Hierro



Esta tesis ha sido realizada en la Unidad de Insuficiencia Cardíaca y Cardiopatías Familiares y la Unidad de Trasplante Cardíaco del Servicio de Cardiología del Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda de Madrid en colaboración con las unidades de Insuficiencia Cardíaca, Cardiopatías Familiares y Trasplante Cardíaco de los Hospitales Universitarios 12 de Octubre y Gregorio Marañón de Madrid, Sant Pau i Santa Creu, Bellvitge y Clinic de Barcelona y del Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña.



**A mis padres y a Laura**

*The results suggest a helical structure (which must be very closely packed) containing probably 2, 3 or 4 coaxial nucleic acid chains per helical unit and having the phosphate groups near the outside.*

**Rosalind Franklin, Febrero 1952**

## AGRADECIMIENTOS

Esta tesis doctoral es producto de dos años de trabajo durante mi beca como cardióloga e investigadora en la Unidad de Insuficiencia Cardíaca y Cardiopatías Familiares del Hospital Universitario de Puerta de Hierro. Son muchas las personas a las que recordar en este apartado, ya que el deseo de completar mi formación académica con una tesis doctoral viene de tiempo atrás y todos han contribuido de alguna forma.

Empezaré por mis profesores de Cardiología en la Universidad de Salamanca, tanto el Dr. Cándido Martín-Luengo como el Dr. Pedro Pabón supieron, además de enseñar una cardiología clínica magistral, transmitir a sus alumnos la inquietud por la investigación como parte integral de la labor médica. Tras cursar su asignatura quedé convencida de querer ser cardióloga para poder dedicarme tanto a la clínica y como a la investigación.

Debo continuar con mi agradecimiento a la Doctora Maite Tomé Esteban. Tuve la suerte de realizar mi rotación externa bajo su tutela en la Unidad de Cardiopatías Hereditarias del Heart Hospital de Londres. Gracias por su docencia, sus consejos sinceros y por acordarse oportunamente de mí. Probablemente de no ser por ella, este trabajo no llevaría mi nombre.

Gracias a mis directores de tesis, el Dr. Pablo García-Pavía y el profesor Luis Alonso Pulpón. Ha sido maravilloso formar parte de este proyecto de investigación y de otros muchos dentro del equipo de Cardiología de Puerta de Hierro. El Dr. Pablo García-Pavía a quien admiro profundamente, decidió apostar por mí y no exagero si digo que me dio una de las mejores oportunidades de mi carrera profesional. Me ha enseñado muchísimo y espero poder poner en práctica lo aprendido en mi nueva etapa profesional.

Por supuesto, agradezco su colaboración e inestimable ayuda a todos los clínicos e investigadores que han participado estudiando a los pacientes y sus familiares de este proyecto: la Dra. María José Ruiz Cano del Hospital 12 de Octubre, el Dr. Vicenç Brossa-Loidi del Hospital Santa Creu i Sant Pau, los Dres. Jesús Palomo y Eduardo Villacorta del Hospital Gregorio Marañón, los Dres. Marisa Crespo, Roberto Barriales y Raquel Marzoa del Complejo Asistencial de la Coruña, Dres. Felix Pérez-Villa y Monserrat Cardona del Hospital Clinic de Barcelona, Dres. Nicolás Manito y Joel Salazar-Mendiguchía del Hospital Bellvitge.

Asimismo, debo expresar mi gratitud a la otra parte clave de este trabajo que son los profesionales que se han encargado de los estudios genéticos, como el Dr. Lorenzo Monserrat e Iria Gómez del laboratorio Health in Code, la Dra. Belen Bornstein del departamento de Bioquímica del Hospital Puerta de Hierro y los Dres. Enrique Lara y Laura Padrón de la unidad de Biología Miocárdica del CNIC.

También quiero mencionar a mis compañeros del equipo de Cardiología del Hospital Puerta de Hierro y en concreto la sección de Insuficiencia Cardíaca y Trasplante Cardíaco, especialmente al Dr. Javier Segovia siempre colaborador y que tan amablemente me ha ayudado con algunas familias especiales. Tampoco me olvido de otros miembros del equipo, mis estimados compañeros: la Dra. Cobo, el Dr. Gómez Bueno y mis co-becarios: Esther González, Gonzalo Guzzo, Inés Sayago, Natalia Jaramillos y Ariadna González. Ha sido un placer trabajar y aprender con cada uno de vosotros. Sólo espero haber estado a vuestra altura.

Ana Briceño, gracias por tu ayuda en todo este trabajo con los pacientes y como coordinadora, pero sobre todo por ser compañera y amiga. Enriqueces a cualquiera que tiene la suerte de trabajar contigo.

Los doctores Javier R. Collado y Pedro Luis Sánchez del Hospital Universitario de Salamanca me brindaron generosamente su apoyo en un momento difícil. Ahora tengo

la enorme fortuna de trabajar cada día con ellos junto con otros muchos compañeros en el Hospital Universitario de Salamanca y el servicio de Cardiología en los que inicié mi carrera profesional como médico y cardióloga. Gracias a todos.

Quisiera dedicarles este trabajo muy especialmente a mis amigos Antonio Carreras y Ana Martín, porque nunca se cansaron de insistir en la importancia de una tesis doctoral y en animarme para llevarla a cabo.

Gracias Jose por tu paciencia y tu comprensión. Este mundo es muy diferente al tuyo y aunque a veces te cueste entenderlo no has dejado de apoyarme en todo momento. Siento el tiempo que te haya podido robar.

Y finalmente, gracias a mis padres por saber enseñarme el amor por el trabajo bien hecho. Confío en que esta tesis doctoral alcance esa meta.



Este trabajo ha podido realizarse gracias a la financiación procedente de los siguientes proyectos de investigación:

- **RD12/0042/0066. Red Nacional de Investigación Cardiovascular (RIC).** Programa RETICs. Instituto de Salud Carlos III. IP Jefe de grupo: Dr Alonso-Pulpón.

- **PI12-01941. Proyecto de Investigación en Salud.** Instituto de Salud Carlos III. IP: Dr Alonso-Pulpón.

### **Publicaciones y comunicaciones a congresos derivadas de este trabajo:**

#### **Artículos originales**

***Idiopathic restrictive cardiomyopathy is primarily a genetic disease.*** Gallego-Delgado M, Monserrat L, Segovia J, Ruiz-Cano MJ, MD, Brossa-Loidi V, Palomo J, Marzoa-Rivas R, Perez-Villa F, Salazar J, Gonzalez-Lopez E, Gomez-Diaz I, Padron-Barthe L, Bornstein B, Lara-Pezzi E, Alonso-Pulpon LA, Garcia-Pavia P. (En evaluación)

#### **Comunicaciones a congresos**

***Genetic spectrum of end-stage idiopathic restrictive cardiomyopathy.*** Gallego-Delgado M, Monserrat L, Cano-Ruiz MJ, Brossa-Loidi V, Palomo J, Marzoa-Rivas R, Perez-Villa F, Salazar J, Pulpon LA, Garcia-Pavia P. ESC Congress 2015 (póster moderado)

***Espectro genético de la miocardiopatía restrictiva idiopática.*** Gallego-Delgado M, Monserrat L, Cano-Ruiz MJ, Brossa-Loidi V, Palomo J, Marzoa-Rivas R, Alonso-Pulpon L, Garcia-Pavia P. Congreso de las enfermedades cardiovasculares SEC 2015 (póster moderado)

***Perfil clínico y genético de la miocardiopatía restrictiva terminal.*** Gallego-Delgado M, Garcia-Pavia P, Cano-Ruiz MJ, Brossa-Loidi V, Palomo J, Marzoa-Rivas R, Salazar-Mendiguchi J, Pulpon LA. Congreso de las enfermedades cardiovasculares SEC 2015 (póster moderado)

**Otras publicaciones y comunicaciones relacionadas con el desarrollo de esta tesis:**

#### **Artículos**

***Adverse clinical course and poor prognosis of hypertrophic cardiomyopathy due to mutations in FHL1.*** Gallego-Delgado M, Gonzalez-Lopez E, Garcia-Guereta L, Ortega-Molina M, Gonzalez Vioque E, Cobo-Marcos M, Alonso-Pulpon L, Garcia-Pavia P. Int J Cardiol. 2015; 191:194-197.

***Miocardiopatías mitocondriales asociadas a la mutación m.3243A>G en el gen MT-TL1: dos caras de la misma moneda.*** Gallego-Delgado M, Cobo-Marcos M, Bornstein B, Hernandez-Lain A, Alonso-Pulpón L, Garcia-Pavia P. Rev Esp Cardiol. 2015;68:153-5.

***Aplicación práctica de la genética en el manejo de las miocardiopatías.*** Cobo-Marcos M, Gallego-Delgado M, Garcia-Pavia P. Cardiacore. 2014; 49:52-58.

***Parálisis auricular familiar debida a una mutación en SCN5A.*** Robles C, Gallego-Delgado M, Castro-Urda V, Muñoz-Esparza C, Gonzalez-Vioque E, García-Pavía P. Rev Esp Cardiol. 2015;68:904-6.

***Cardiac extracellular volume quantified by CMR detects amyloidotic cardiomyopathy and correlates with neurological impairment in TTR-familial amyloid polyneuropathy.*** Gallego-Delgado M, Gonzalez-Lopez E, Muñoz F, Buades

J, Galan L, Muñoz-Blanco JL, Sanchez-Gonzalez J, Ibañez B, Mirelis J G, Garcia-Pavia P (En evaluación)

### Capítulos de libros

***Miocarditis y miocardiopatías.*** Gallego-Delgado M, Garcia-Pavia P. En Nuñez Gil I, Viana Tejedor A editores. Cardio Agudos. Vol I. Madrid: Grupo CTO Editorial; 2015.

### Comunicaciones a congresos

***Capacidad del HCM risk-SCD score para predecir MS en una cohorte independiente de pacientes con MCH.*** Gallego-Delgado M, Arana X, Robles-Gamboa C, González-López E, Cobo-Marcos M, Fernández-Lozano I, García-Pavía P, Alonso-Pulpón L. Congreso de las enfermedades cardiovasculares SEC 2015 (comunicación oral, becada con una inscripción para en congreso de las enfermedades cardiovasculares de la SEC 2015, por ser una de los *abstract* mejor valorados)

***Cardiac extracellular volume quantified by cardiac magnetic resonance reflects degree of cardiac and neurological involvement in familial transthyretin amyloidosis.*** Gallego-Delgado M, Gonzalez-Lopez E, Munoz Beamud F, Buades J, Galan L, Munoz Blanco JL, Sanchez Gonzalez J, Ibanez B, Mirelis JG, Garcia-Pavia P. ESC Congress 2015 (póster)

***Detección de afectación cardíaca mediante la cuantificación del volumen extracelular cardíaco por RM en la amiloidosis TTR hereditaria.*** Gallego-Delgado M, González López E, Muñoz Beamud F, Sánchez-González J, Galán Dávila L, Ibáñez Cabeza B, González Mirelis J, García-Pavía P. Congreso de las enfermedades cardiovasculares SEC 2014 (comunicación oral)

***Correlación de la afectación neurológica con el volumen extracelular cardíaco calculado mediante RM en la amiloidosis TTR hereditaria.*** Gallego Delgado M, González López E, Buades Reinés J, Galán Dávila L, Muñoz Blanco JL, Ibáñez Cabeza B, González Mirelis J, García-Pavía P. Congreso de las enfermedades cardiovasculares SEC 2014 (póster moderado)

***Características de la miocardiopatía dilatada por mutaciones en BAG3.*** Cuenca Parra S, García-Pavía P, Gallego-Delgado M, Ruíz-Cano MJ, Pascual-Fidal D, Gómez-Bueno M, Segovia Cubero J, Alonso-Pulpón LA. Congreso de las enfermedades cardiovasculares SEC 2014 (comunicación oral)

***Utilidad del estudio genético en la predicción de la evolución clínica de los pacientes con miocardiopatía hipertrófica.*** Restrepo Córdoba MA, García-Pavía P, Ripoll T, Campuzano O, Gallego-Delgado M, Gómez-Bueno M, Brugada R, Alonso-Pulpón L. Congreso de las enfermedades cardiovasculares SEC 2014 (comunicación mini-oral)

## ÍNDICE TEMÁTICO

1.	INTRODUCCIÓN.....	19
1.1.	Miocardiopatías .....	19
1.1.1.	Concepto.....	19
1.1.2.	Clasificación.....	19
1.1.3.	Bases moleculares.....	21
1.2.	Miocardiopatía restrictiva .....	24
1.2.1.	Definición. ....	24
1.2.2.	Epidemiología. ....	26
1.2.3.	Histopatología. ....	27
1.3.	Diagnóstico de MCR.....	29
1.3.1.	Función y disfunción diastólica.....	29
1.3.2.	Fisiología restrictiva.....	30
1.4.	Historia natural y tratamiento de la MCR .....	36
1.4.1.	Insuficiencia cardíaca congestiva.....	36
1.4.2.	Otras complicaciones.....	38
1.4.3.	Tratamiento.....	38
1.4.4.	Trasplante Cardíaco.....	38
1.4.5.	Pronóstico.....	39
1.5.	Bases genéticas de la MCR.....	41
1.5.1.	MCR familiar .....	41
1.5.2.	Genes relacionados con MCR.....	42
1.5.3.	Recomendaciones sobre el estudio genético en la MCR.....	44
1.6.	Técnicas de secuenciación masiva: NGS .....	51
2.	OBJETIVOS DEL ESTUDIO .....	54
2.1.	Objetivo principal .....	54
2.2.	Objetivos concretos .....	54
3.	HIPÓTESIS DEL ESTUDIO.....	55
3.1.	Hipótesis conceptual.....	55

3.2.	Hipótesis operativa .....	55
4.	PACIENTES Y MÉTODOS .....	56
4.1.	Diseño del estudio .....	56
4.2.	Población de estudio .....	57
4.2.1.	Selección de pacientes. ....	57
4.2.2.	Recogida de datos. ....	58
4.3.	Estudio genético .....	58
4.3.1.	Análisis genético. ....	58
4.3.2.	Interpretación de los resultados. ....	59
4.4.	Evaluación familiar.....	61
4.4.1.	Árboles familiares.....	61
4.4.2.	Estudio clínico y genético familiares.....	61
4.5.	Análisis estadístico .....	62
5.	RESULTADOS .....	63
5.1.	Características clínicas.....	63
5.2.	Resultados genéticos .....	72
5.2.1.	Resultados genéticos en los probandos.....	72
5.2.2.	Resultados genéticos tras la evaluación familiar .....	72
5.2.3.	Genes causales de MCR. ....	74
5.2.4.	Correlaciones genotipo-fenotipo.....	76
5.2.5.	MCR familiar .....	76
6.	DISCUSIÓN.....	85
6.1.	Características clínicas de la MCR idiopática en programa de TXC .....	85
6.2.	Base genética de la miocardiopatía restrictiva .....	87
6.3.	Test genético y evaluación familiar en la MCR idiopática.....	90
6.4.	Limitaciones.....	92
7.	CONCLUSIONES.....	95
	<b>RESUMEN.....</b>	<b>96</b>
	<b>APÉNDICES.....</b>	<b>101</b>

□	Apéndice 1. Árboles familiares.....	101
□	Apéndice 2. Genes analizados .....	134
□	Apéndice 3. MCR asociada a cardiopatía congénita familiar .....	145
	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>149</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Definición de miocardiopatía restrictiva en las sucesivas clasificaciones propuestas para las miocardiopatías .....	25
Tabla 2. Causas de miocardiopatía restrictiva.....	26
Tabla 3. Presiones en las cavidades cardíacas y arteria pulmonar .....	31
Tabla 4. Datos ecocardiográficos de fisiología restrictiva .....	35
Tabla 5. Evolución de la MCR idiopática: principales series de pacientes adultos .....	37
Tabla 6. Genes relacionados con MCR .....	46
Tabla 7. Genes relacionados con MCR en el contexto de enfermedades sistémicas ..	48
Tabla 8. Recomendaciones para el estudio genético y familiar en la MCR idiopática ..	50
Tabla 9. Genes analizados .....	59
Tabla 10. Resumen de los hallazgos de la evaluación inicial .....	65
Tabla 11. Características clínicas, familiares y genéticas de la cohorte .....	66
Tabla 12. Características clínicas, electrocardiográficas, ecocardiográficas y hemodinámicas de los pacientes con y sin mutaciones patogénicas .....	77
Tabla 13. Características clínicas, electrocardiográficas, ecocardiográficas y hemodinámicas de los pacientes con mutaciones patogénicas en genes sarcoméricos y no sarcoméricos .....	78
Tabla 14. Mutaciones patogénicas.....	79
Tabla 15. Variantes de significado incierto.....	81
Tabla 16. Otras variantes genéticas relevantes en genes no relacionados con miocardiopatías.....	84
Tabla 17. Características basales de la MCR de nuestra cohorte (A) y de una cohorte histórica americana (B).....	86



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificaciones propuestas para las miocardiopatías .....	19
Figura 2. Clasificación europea de las miocardiopatías .....	20
Figura 3. Solapamiento genético en las miocardiopatías .....	22
Figura 4. Bases moleculares de las miocardiopatías hereditarias .....	23
Figura 5. Rentabilidad de estudios genéticos en las miocardiopatías .....	24
Figura 6. Histopatología en la MCR .....	28
Figura 7. Propiedades de la diástole y factores determinantes .....	30
Figura 8. Curvas de presión-volumen .....	31
Figura 9. Trazados de presión con manómetro de alta fidelidad del VI y el VD.....	32
Figura 10. Patrones ecocardiográficos de disfunción diastólica .....	34
Figura 11. Causas de TXC según el registro internacional de trasplantes .....	39
Figura 12. Supervivencia de los pacientes con MCR idiopática .....	40
Figura 13. Primera gran familia descrita con MCR, BAV y miopatía.....	41
Figura 14. Targeted Next Generation Sequencing .....	52
Figura 15. Distribución de pacientes por centro de TXC y origen geográfico .....	56
Figura 16. Resultados del estudio genético .....	73
Figura 17. Genes con mutaciones patogénicas .....	74
Figura 18. Heterogeneidad genética de la MCR .....	75

## GLOSARIO DE TÉRMINOS

BAV: bloqueo auriculoventricular	MCP: marcapasos
BEM: biopsia endomiocárdica	MP: mutación patogénica
CPK: creatinina fosfoquinasa	MS: muerte súbita
DAI: desfibrilador automático implantable	NGS: next generation sequencing
DS: desviación estándar	NTproBNP: propéptido natriurético cerebral N-terminal
ECG: electrocardiograma	NYHA: New York Heart Association
FA: fibrilación auricular	OR: odds ratio
FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo	RIC: rango intercuartílico
HR: hazard ratio	TDM: tiempo de desaceleración de la onda E mitral
ICC: insuficiencia cardíaca	TRIV: tiempo de relajación isovolumétrica
MCD: miocardiopatía dilatada	TXC: trasplante cardíaco
MCH: miocardiopatía hipertrófica	VSI: variante de significado incierto
MCR: miocardiopatía restrictiva	

# 1. INTRODUCCIÓN

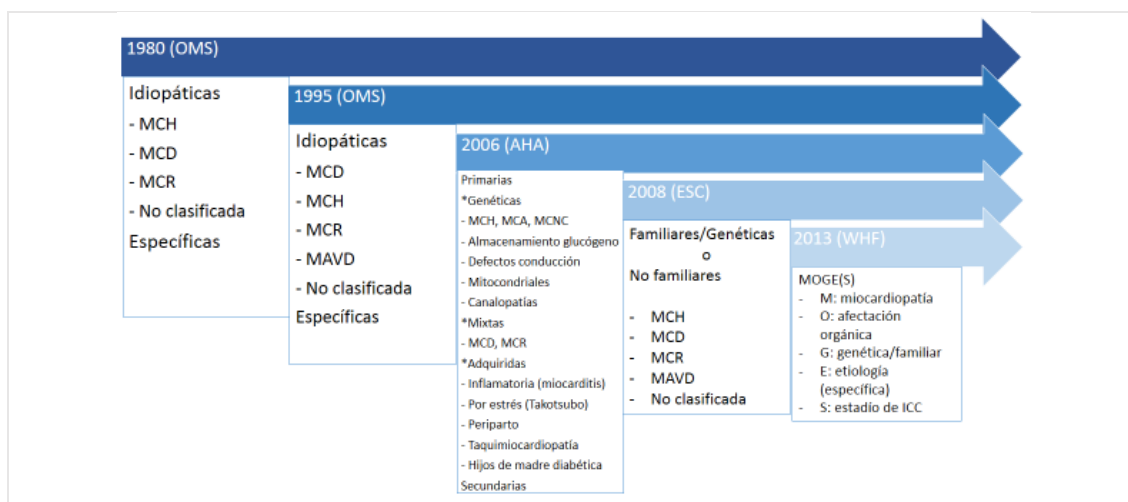
## 1.1. Miocardiopatías

### 1.1.1. Concepto.

Las miocardiopatías son trastornos en los que el músculo cardíaco es estructural y funcionalmente anómalo sin que exista otra causa que lo justifique como enfermedad arterial coronaria, hipertensión arterial, valvulopatías, cardiopatías congénitas o cualquier otra condición que provoque anomalías en las condiciones de carga <sup>(1)</sup>.

Representan una de las causas más frecuentes de muerte súbita (MS) e insuficiencia cardíaca (ICC) especialmente en pacientes jóvenes y suponen más de la mitad de los trasplantes cardíacos que se realizan en el mundo <sup>(2,3)</sup>.

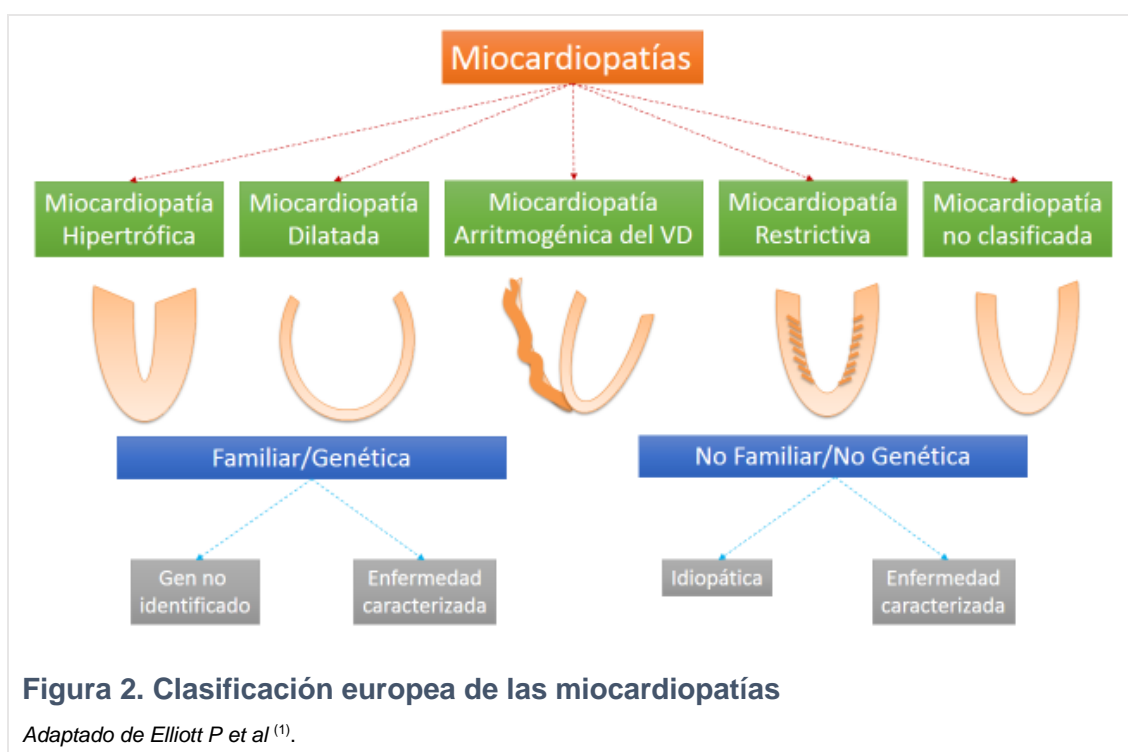
### 1.1.2. Clasificación.



**Figura 1. Clasificaciones propuestas para las miocardiopatías**

AHA: American Heart Association; ESC: European society of Cardiology; ICC: insuficiencia cardíaca congestiva; MAVD: miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho; MCA: miocardiopatía arritmogénica; MCD: miocardiopatía dilatada; MCH: miocardiopatía hipertrófica; MCR: miocardiopatía restrictiva; OMS: organización mundial de la salud; WHF: World heart federation <sup>(1,4-7)</sup>.

Se han propuesto varias clasificaciones de las miocardiopatías en las últimas décadas (1,4-7), que diferencian los tipos de miocardiopatías según las características morfofuncionales y las posibles etiologías subyacentes (figura 1). La última clasificación europea se desliga de la propuesta previamente por la AHA que clasificaba las miocardiopatías según su etiopatogenia (genética, mixta o adquirida) (6) y propone una clasificación eminentemente práctica basada en los aspectos morfofuncionales fácilmente reconocibles por el clínico (1). Añade una subclasificación para todas las miocardiopatías, según se presenten en forma familiar (base genética) o no familiar (otras causas identificables o desconocidas) (figura 2).



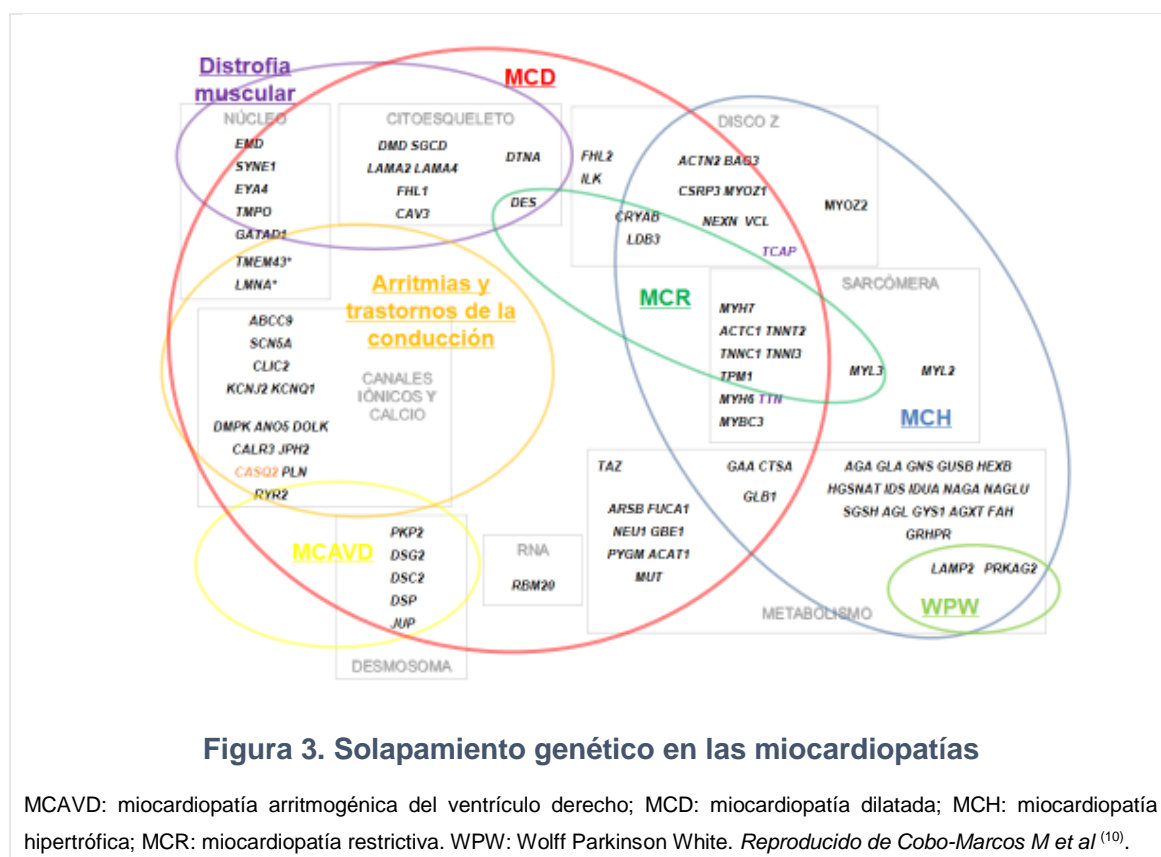
Las principales miocardiopatías son la miocardiopatía hipertrófica (MCH) (caracterizada por el engrosamiento de las paredes ventriculares), la miocardiopatía dilatada (MCD) (dilatación de la cavidad ventricular pérdida de la fuerza contráctil), la miocardiopatía restrictiva (MCR) (alteración de la relajación con un patrón diastólico restrictivo sin alteraciones importantes en el grosor o el tamaño de la cavidad) y la miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho (disfunción global/regional del ventrículo derecho con propensión a las arritmias ventriculares) (figura 2) (1). Existe

otra clasificación denominada MOGE(S) propuesta más recientemente, que prescinde de las teóricas correlaciones fenotipo-genotipo y propone una descripción individualizada y sistematizada atendiendo a cinco aspectos: fenotipo, afectación de otros órganos, base genética, etiología específica conocida y clase funcional clínica <sup>(7)</sup>. Por su laboriosidad su utilización está poco extendida.

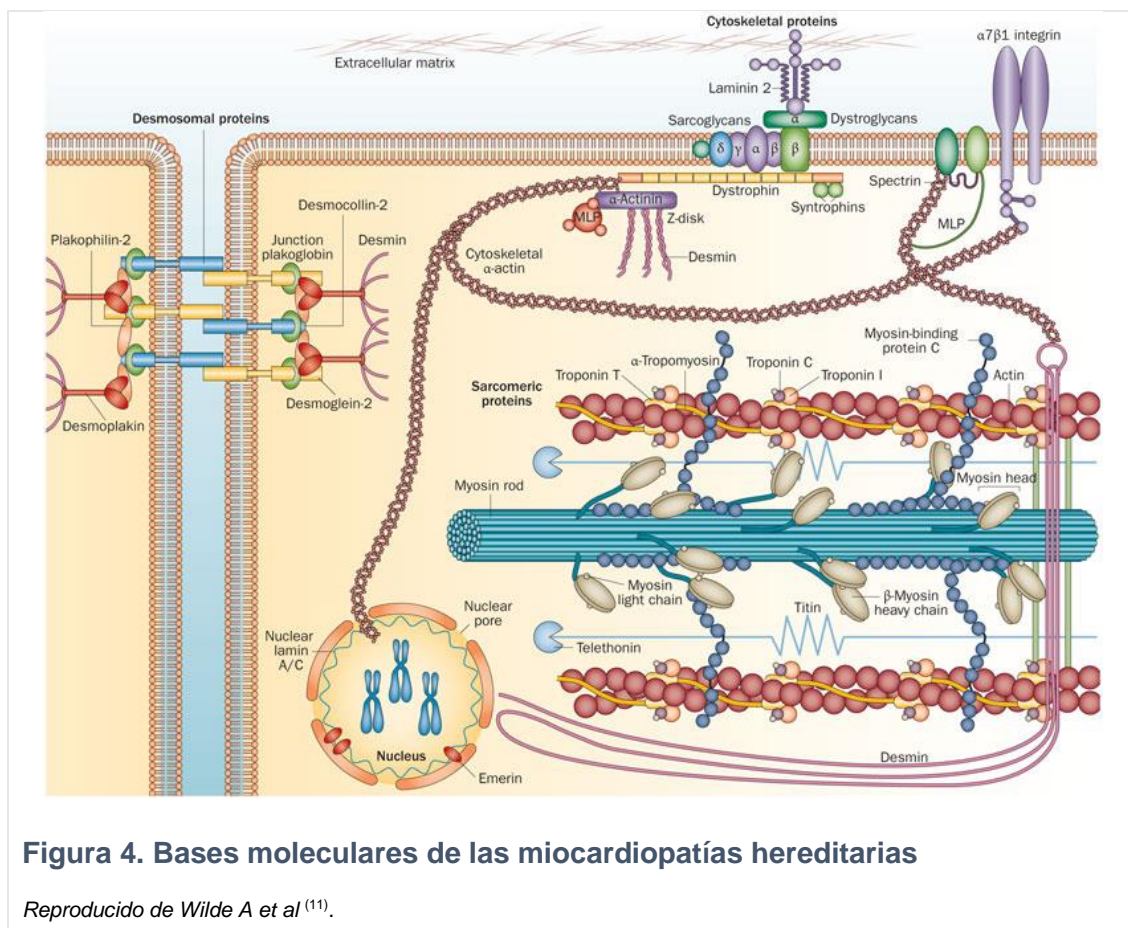
El concepto de miocardiopatía familiar o hereditaria se refiere a aquellas formas de miocardiopatía en las que existe más de un miembro en la misma familia afectado con el mismo o distinto tipo de miocardiopatía pero causadas por el mismo defecto genético. La mayoría de miocardiopatías familiares son enfermedades monogénicas, debidas a la presencia de una única mutación y con relativa frecuencia son mutaciones privadas, es decir, sólo se han descrito en una familia aislada. Dentro de las miocardiopatías familiares o hereditarias también se incluyen las formas esporádicas (primer caso en una familia) debidas a mutaciones *de novo*, ya que la enfermedad tiene una causa genética y podría ser transmitida a la descendencia <sup>(1)</sup>.

### **1.1.3. Bases moleculares.**

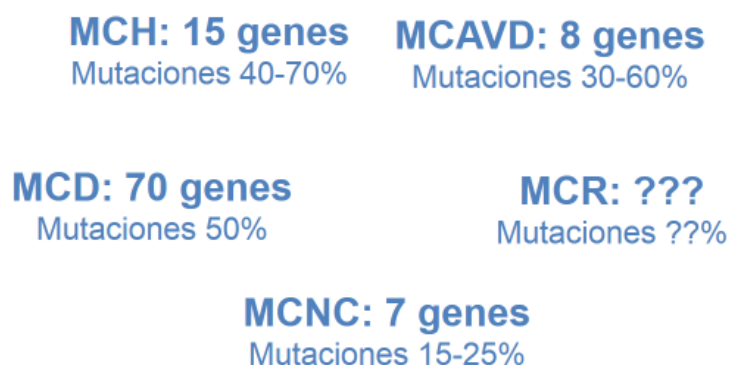
El conocimiento de las bases de moleculares de las miocardiopatías es necesario para comprender la fisiopatología de la enfermedad, proporciona objetivos potenciales para la intervención terapéutica, contribuye al diagnóstico, permite el cribado de otros miembros de la familia afectados y en ocasiones, proporciona información pronóstica <sup>(8)</sup>. Las miocardiopatías familiares tienen una gran heterogeneidad genética, es decir, que múltiples genes pueden causar una misma miocardiopatía y además, existe un solapamiento genotipo-fenotipo de tal forma que el mismo gen puede causar diferentes miocardiopatías (figura 3) <sup>(1,7,9,10)</sup>.



Los genes relacionados con las miocardiopatías codifican para proteínas que participan en la función contráctil, la transmisión de la fuerza y la comunicación intercelular (figura 4) <sup>(8,11)</sup>. Existen varios patrones de herencia siendo el más frecuente el autosómico dominante <sup>(7,9)</sup>. La heterogeneidad clínica se debe a factores como la penetrancia incompleta, es decir, no necesariamente todos los pacientes portadores desarrollarán la enfermedad y los que finalmente la padezcan no lo harán ni a la misma edad ni con las mismas características clínicas ni gravedad en las manifestaciones lo que se denomina variabilidad de la expresividad clínica <sup>(1,7)</sup>. Desde que se publicó en 1990 la primera mutación causal de MCH familiar en el gen de la cadena pesada beta de la miosina (*MHY7*) se han conocido múltiples de mutaciones en diversos genes relacionados con la función miocárdica <sup>(12)</sup>.



El conocimiento de las bases moleculares de estas enfermedades ha mejorado sustancialmente tras completarse la secuenciación del genoma humano en el año 2000<sup>(13,14)</sup> y cabe esperar que mejore aún más con la irrupción de las nuevas tecnologías de secuenciación masiva a día de hoy ya asequibles no sólo para el campo de la investigación sino también en la práctica clínica. La rentabilidad de los estudios genéticos en las diferentes miocardiopatías con las técnicas de secuenciación convencionales se muestra en la figura 5. En el caso de la MCR, la rentabilidad de los estudios genéticos es aún desconocida<sup>(9,15,16)</sup>.



**Figura 5. Rentabilidad de estudios genéticos en las miocardiopatías**

El análisis de unos determinados genes en cada miocardiopatía ofrece una rentabilidad para identificar la mutación causal de la enfermedad. En el caso de la miocardiopatía restrictiva se desconoce cuál esta rentabilidad <sup>(9)</sup>.

MCAVD: miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho; MCD: miocardiopatía dilatada; MCH: miocardiopatía hipertrófica; MCNC: miocardiopatía no clasificada; MCR: miocardiopatía restrictiva.

## 1.2. Miocardiopatía restrictiva

### 1.2.1. Definición.

La MCR se define por la existencia de una fisiología restrictiva en presencia de volúmenes ventriculares normales o casi normales, a veces reducidos y grosor de pared ventricular normal <sup>(1)</sup>. La MCR ha sido siempre incluida como un subtipo de miocardiopatía desde la primera clasificación en 1980 <sup>(4)</sup>. Curiosamente, una de las primeras descripciones de la MCR idiopática fue “enfermedad cardíaca de causa desconocida que cursa con un músculo cardíaco rígido sin hipertrofia importante similar a como se ve en la amiloidosis” <sup>(17)</sup>. Las definiciones propuestas para la MCR se describen en la tabla 1.



**Tabla 1. Definición de miocardiopatía restrictiva en las sucesivas clasificaciones propuestas para las miocardiopatías**

<b>OMS 1980</b>	Enfermedad del músculo cardíaco de causa desconocida con fibrosis endomiocárdica de uno o ambos ventrículos que restringe el llenado. Se pueden ver afectadas las válvulas auriculoventriculares pero no suele existir obstrucción del tracto de salida. La obliteración de la cavidad es característica de las formas avanzadas.
<b>OMS 1996</b>	Llenado restrictivo y volúmenes diastólicos reducidos con función sistólica normal o casi-normal así como el grosor ventricular. Puede ser idiopática o estar asociada con otros trastornos (amiloidosis, enfermedades endomiocárdicas con o sin eosinofilia...).
<b>AHA 2006</b>	Volúmenes de ambos ventrículos normales o disminuidos asociado a crecimiento biauricular, grosor de ventrículo izquierdo y de válvulas auriculoventriculares normales con alteración del llenado con patrón restrictivo y normal o casi normal función sistólica.
<b>ESC 2008</b>	Fisiología ventricular restrictiva en presencia de volúmenes ventriculares normales o reducidos y grosor de pared ventricular normal.
<b>WHF 2013</b>	Relajación alterada con llenado del ventrículo izquierdo anómalo, dilatación biauricular en ausencia de hipertrofia ventricular izquierda.

AHA: American Heart Association; ESC: European society of Cardiology; OMS: Organización Mundial de la Salud;

WHF: World heart federation <sup>(1,4-7)</sup>.

La disfunción sistólica ventricular izquierda no se considera un criterio de exclusión ya que en fases avanzadas de la enfermedad no es infrecuente que se produzca un deterioro de la función sistólica de uno o ambos ventrículos tanto en la MCR idiopática <sup>(18)</sup> como en otras formas de MCR como la amiloidosis <sup>(19)</sup>.

Acorde con las clasificación europea de las miocardiopatías, dentro de la MCR se distinguen aquellas formas que afectan predominantemente al miocardio con diversas etiologías (infiltrativas, tóxicas, enfermedades sistémicas...) y otras formas en las que la afectación es endomiocárdica (con o sin hiperesofilia) <sup>(1)</sup>. Un resumen de las posibles causas de MCR se muestra en la tabla 2 <sup>(20)</sup>.

**Tabla 2. Causas de miocardiopatía restrictiva**

Familiar	<p>Familiar (gen desconocido, AD)</p> <p>Sarcomérica (<i>TNNI3</i>, <i>MYH7</i>, <i>MYL3</i>) (AD)</p> <p>Desminopatías (<i>DES</i>, <i>CRYAB</i>) (AD)</p> <p>Amiloidosis familiar (<i>TTR</i>, <i>APOA1</i>) (AD)</p> <p>Hemocromatosis (<i>HFE</i>, AR)</p> <p>Enfermedades por depósito lisosomal</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Enfermedad de Fabry (<i>GLA</i>, ligada al X)</li> <li>- Enfermedad de Gaucher (<i>GBA</i>, AR)</li> <li>- Enfermedad de Hurler (<i>IDUA</i>, AR)</li> </ul> <p>Enfermedades por depósito de glucógeno (<i>GAA</i>, <i>AGL</i>) (AR)</p> <p>Pseudoxantoma elástico (<i>ABCC6</i>, AD o AR)</p>
No familiar	<p>Amiloidosis (AL, prealbúmina)</p> <p>Esclerodermia</p> <p>Sarcoidosis</p> <p>Síndrome Carcinoide</p> <p>Metástasis</p> <p>Radiación</p> <p>Tóxicos (antraciclinas)</p>
	<p>Formas endomiocárdicas</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Síndrome Hipereosinofílico (Endocarditis de Löffler)</li> <li>- Drogas (serotonina, metisergida, ergotamina, mercuriales, busulfano)</li> <li>- Idiopática</li> </ul>

Adaptado de las referencias 20 y 21.

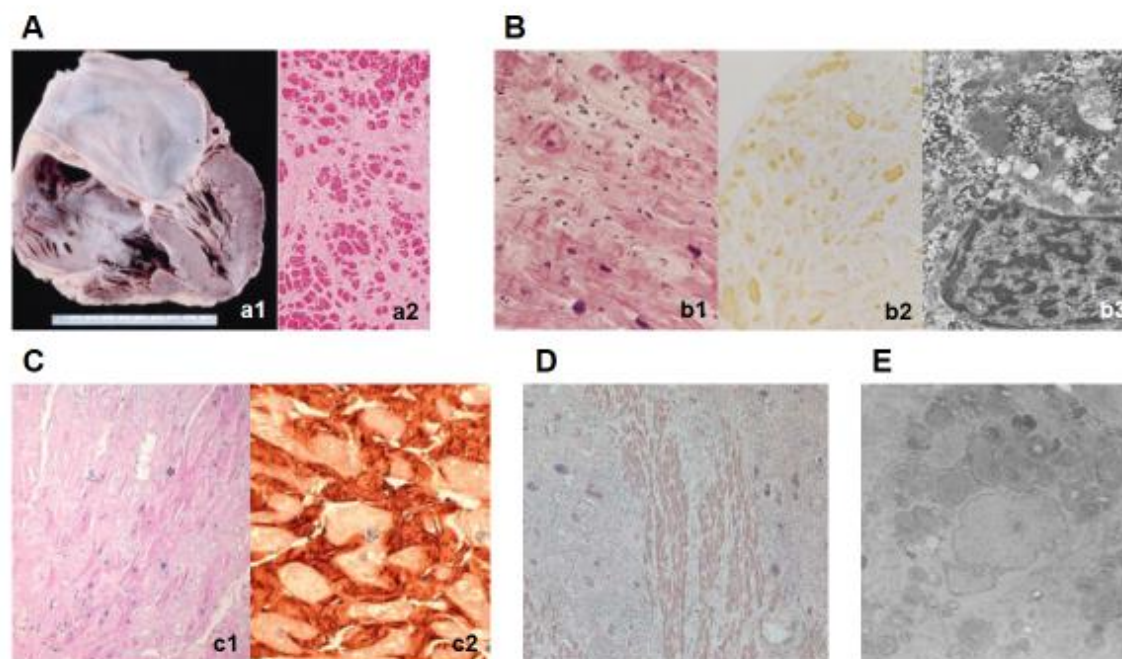
### 1.2.2. Epidemiología.

La forma más frecuente de MCR en las zonas tropicales es la fibrosis endomiocárdica, endémica en algunas regiones de África, India y América del sur y central <sup>(22)</sup>. En las regiones no tropicales y en concreto en Europa la forma más frecuente de MCR es la amiloidosis y dentro de esta la amiloidosis primaria o AL <sup>(20)</sup>. La MCR idiopática es la forma de miocardiopatía menos frecuente. En el registro norteamericano de miocardiopatías en la infancia la MCR idiopática representa el 3% de los casos <sup>(23)</sup>. En adultos la prevalencia real se desconoce <sup>(1)</sup>. Parece ser más común en mujeres que en hombres <sup>(18)</sup>.

### 1.2.3. Histopatología.

Los hallazgos histopatológicos de la MCR dependen de la causa subyacente (figura 6). La realización de una biopsia endomiocárdica (BEM) puede ayudar a distinguir la causa de MCR, especialmente enfermedades infiltrativas o por depósito y a veces también ayuda en el diagnóstico diferencial con la pericarditis constrictiva <sup>(24,25)</sup>. En un trabajo que analiza el papel de BEM en el esclarecimiento de la ICC de origen desconocido (851 casos) los pacientes con MCR “a estudio” fueron el grupo más numeroso, representando un 33,6% del total. La etiología más frecuente fue la amiloidosis (20%). Además, identificaron tres casos de sarcoidosis, un caso de enfermedad Fabry y un caso de hemocromatosis <sup>(26)</sup>.

Los hallazgos en la MCR idiopática son inespecíficos y comunes a otras miocardiopatías también primarias. Incluyen la hipertrofia de miocitos, cambios nucleares inespecíficos, fibrosis endocárdica e intersticial en grados variables y desorganización miofibrilar similar a la de la MCH <sup>(18,27-29)</sup>.



**Figura 6. Histopatología en la MCR**

**A. MCR idiopática.** a1. Macroscópicamente destaca el crecimiento de ambas aurículas con ventrículos de tamaño normal. a2. Microscópicamente con HE se aprecia el elevado grado de fibrosis intersticial. *Reproducido de Ammash NM et al* <sup>(18)</sup>. **B. MCR por desmina.** b1. Fibrosis intersticial e hipertrofia de miocardiocitos focal con núcleos prominentes y cierta desorganización miofibrilar. b2. En ME se observan los depósitos de material granular-filamentoso típicos. b3. Inmunohistoquímica para desmina se observa depósitos en forma de aglomerados irregulares. *Reproducido de et al Arbustini E et al* <sup>(30)</sup>. **C. Amiloidosis por transtirretina (forma familiar).** c1. En la tinción HE, el amiloide aparece como material amorfo entre los miocitos (\*). c2. Inmunohistoquímica para la detección de transtirretina perimicótica. *Reproducido de García-Pavía P et al* <sup>(25)</sup>. **D. MCR por sarcoidosis.** HE, se observa extensa fibrosis y algunos granulomas que contienen células gigantes. *Reproducido de Kushwaha SS et al* <sup>(20)</sup>. **E. Enfermedad de Fabry.** ME muestra miocardiocito con múltiples lisosomas perinucleares llenos de depósitos laminares membranosos característicos. *Hillsley RE et al* <sup>(31)</sup>.

HE: hematoxilina y eosina; ME: microscopía electrónica; MCR: miocardiopatía restrictiva

### 1.3. Diagnóstico de MCR

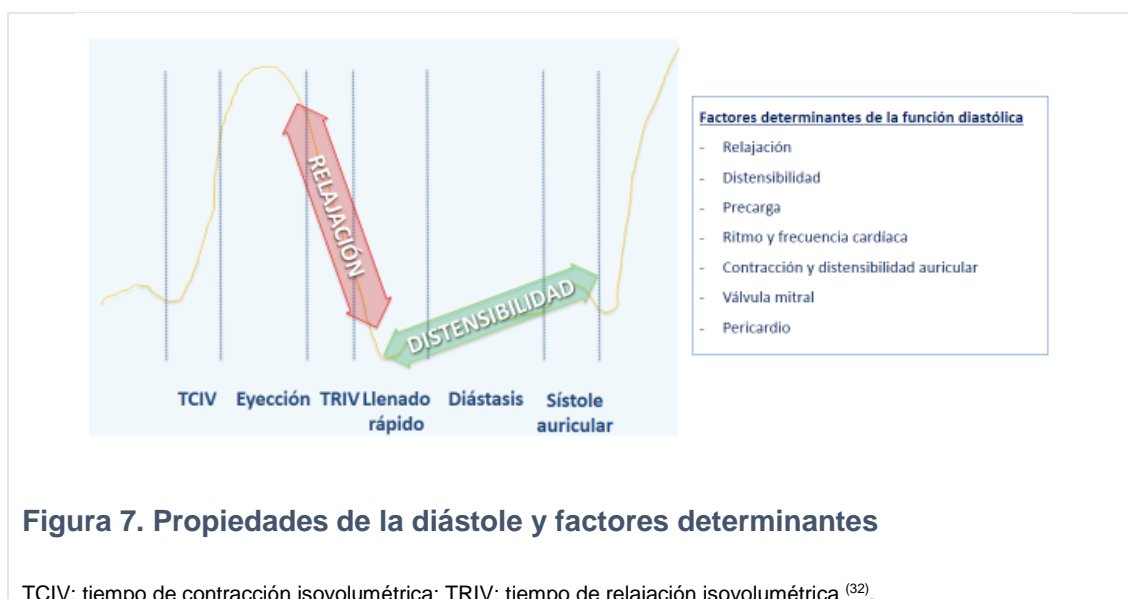
#### 1.3.1. Función y disfunción diastólica.

Las fases de la diástole ventricular son <sup>(21,32)</sup>:

- Período de relajación isovolumétrica (TRIV): fase inicial muy breve en la que el miocardio se relaja (consumo energético) produciendo una caída de la presión intraventricular sin cambios en el volumen al estar cerrada las válvulas
- Fase de llenado diastólico rápido: tras la apertura de las válvulas auriculoventriculares comienza la entrada de sangre al ventrículo. Se acompaña de un movimiento elástico de los ventrículos con desplazamiento del anillo mitral hacia la base (onda Ea con el Doppler tisular) lo que crea un efecto de succión que favorece este llenado rápido precoz (ondas E con el Doppler pulsado)
- Fase de llenado diastólico lento o diástasis: proceso pasivo determinado por las propiedades elásticas del miocardio (distensibilidad) y cuya existencia depende en parte de la frecuencia cardíaca (con taquicardia puede llegar a desaparecer).
- Fase de contracción auricular: que proporciona un último impulso al llenado de los ventrículos (onda A con Doppler pulsado).

En la figura 7 se muestran las fases de la diástole y cuáles son los distintos factores y determinantes que influyen en la función diastólica. En un miocardio enfermo o anciano se produce una pérdida de la distensibilidad ventricular y de la elasticidad valvular con una mayor dependencia del llenado debido a la contracción auricular. Conforme la distensibilidad ventricular se ve comprometida se limita la expansión de la cavidad en el llenado pasivo, por lo que los cambios de volumen se acompañan de grandes incrementos en la presión intracavitaria. Este aumento de presión se transmite a las aurículas, que deben mantener una elevada presión auricular para

mantener el gradiente con una contracción auricular progresivamente menos efectiva (21,33).

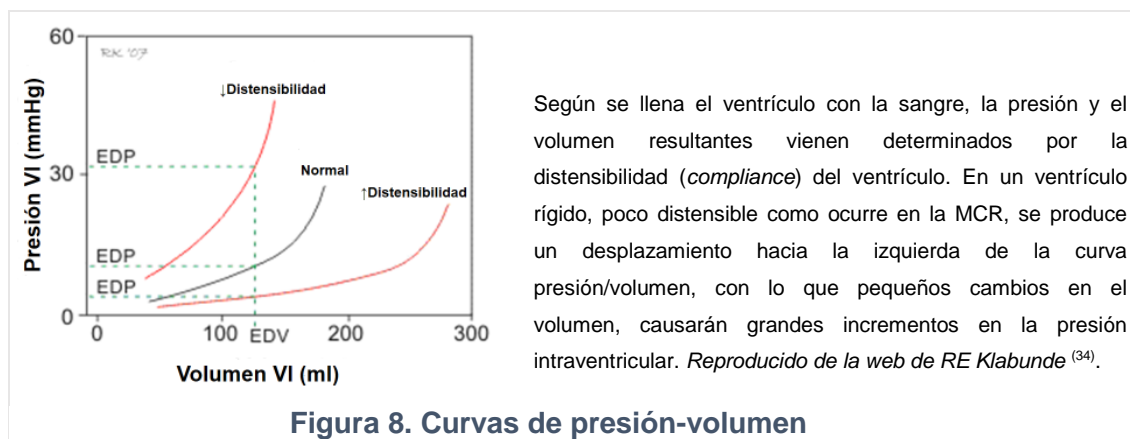


**Figura 7. Propiedades de la diástole y factores determinantes**

TCIV: tiempo de contracción isovolumétrica; TRIV: tiempo de relajación isovolumétrica <sup>(32)</sup>.

### 1.3.2. Fisiología restrictiva.

La disfunción diastólica se desarrolla precozmente en la mayoría de las patologías cardíacas y lleva a la elevación en las presiones de llenado del ventrículo izquierdo. Puede deberse a alteraciones de la relajación o de la distensibilidad miocárdica. En la MCR el miocardio es rígido, escasamente distensible por lo que casi todo el llenado ventricular se produce en la fase de llenado rápido y pequeños cambios de volumen producen grandes aumentos de la presión intraventricular (figura 8) <sup>(32-35)</sup>.



El estudio de presiones intracavitarias se realiza mediante cateterismo cardiaco. Los valores normales y los diagnósticos de MCR se muestran en la tabla 3.

**Tabla 3. Presiones en las cavidades cardíacas y arteria pulmonar**

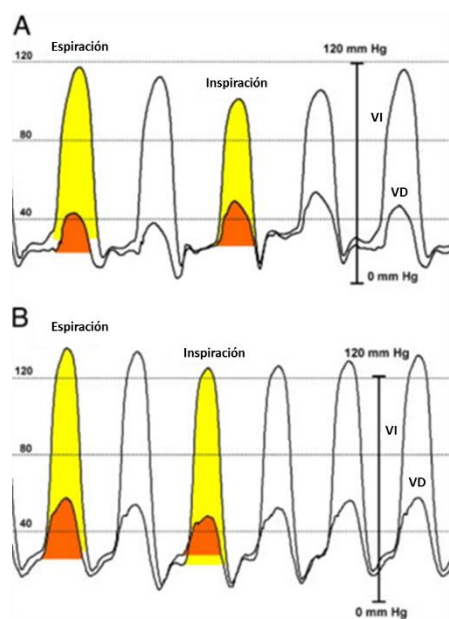
Se muestran los valores normales y los requeridos para el diagnóstico de MCR. Entre paréntesis los frecuentemente observados <sup>(32)</sup>.

Presiones	Media (mmHg)	Intervalo (mmHg)	En MCR (mmHg)
<b>Aurícula derecha</b>			
Onda a	6	2-7	
Onda v	5	2-7	
Media	3	1-5	>7 (>15)
<b>Ventrículo derecho</b>			
Sistólica máxima	25	15-30	
Telediastólica	4	1-7	>7 (>+5 en VI)
<b>Arteria pulmonar</b>			
Sistólica máxima	25	15-30	(>50)
Telediastólica	9	4-12	
Media	15	9-19	
<b>Enclavamiento capilar pulmonar</b>			
Media	9	4-12	>12
<b>Aurícula izquierda</b>			
Onda a	10	4-16	
Onda v	12	6-21	
Media	15	2-12	(>15)
<b>Ventrículo izquierdo</b>			
Sistólica máxima	130	90-140	
Telediastólica	8	5-12	>12

En general la MCR se caracteriza por aumento de presiones auriculares (>15 mmHg con presión media en aurícula derecha de al menos 7 mmHg), presión de enclavamiento de al menos 12 mmHg y es frecuente una presión pulmonar sistólica por encima de 50 mmHg. La presión telediastólica en ambos ventrículos suele estar aumentada existiendo con frecuencia una diferencia superior a 5 mmHg entre ventrículo izquierdo y derecho que ayuda en el diagnóstico diferencial con la pericarditis constrictiva. La morfología de la curva de presión ventricular en raíz cuadrada o *dip-and-plateau* se describe como típico aunque no es específico (también se ve en la pericarditis constrictiva) ni constante (tras tratamiento diurético intensivo puede desaparecer y en situaciones de taquicardia tampoco es apreciable). Se caracteriza por un descenso brusco inicial seguido de un rápido ascenso protodiastólico hasta un nivel que se mantiene elevado en meseta, hasta la telediástole figura 9. El cateterismo cardiaco aunque es el método de elección no deja de ser una técnica cruenta e invasiva con los riesgos y limitaciones que ello implica. No siempre se realiza de inicio o de rutina salvo que la situación clínica del paciente lo requiera <sup>(36,37)</sup>.

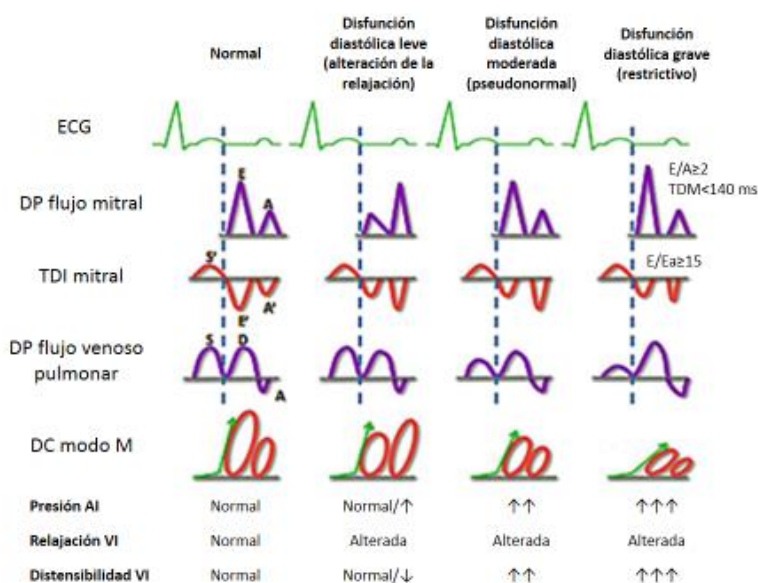
**Figura 9. Trazados de presión con manómetro de alta fidelidad del VI y el VD**

Ambos pacientes presentan un llenado rápido temprano y una elevación e igualación final de presiones en VI y VD al final de la espiración. A. Paciente con pericarditis constrictiva documentada quirúrgicamente. Durante la inspiración existe un aumento en el área de la curva de presión del VD (área sombreada en naranja) en comparación con la espiración. El área de la curva de presión de VI (área sombreada en amarillo) disminuye durante la inspiración en comparación con la espiración. B. Paciente con MCR documentada en biopsia endomiocárdica. Durante la inspiración, existe una disminución en el área de la curva de presión de VD en comparación con la espiración. El área de la curva de presión en VI no se ha modificado durante la inspiración en comparación con la espiración. *Reproducido de Talreja DR et al* <sup>(36)</sup>.





La ecocardiografía nos permite realizar una estimación bastante precisa de las presiones intracardíacas, siendo la herramienta ideal para el diagnóstico de la disfunción diastólica. Mediante la evaluación con ecocardiografía Doppler del flujo transmitral se establecen cuatro patrones de función diastólica (normal, retraso de la relajación, pseudonormal y restrictivo reversible o no reversible). El patrón de llenado restrictivo se caracteriza por un aumento de la onda E  $\geq 1$  m/s (elevada velocidad de llenado diastólico temprano o “early”), disminución de la onda A  $\leq 0,5$  m/s (por la pérdida de la contribución auricular al llenado debido a las altas presiones intraventriculares) con un incremento de la relación E/A  $\geq 2$ . Estos patrones se correlacionan con las presiones de llenado pero no son constantes, pueden variar a lo largo del tiempo dependiendo de otros factores y maniobras en un mismo paciente (frecuencia cardíaca, uso de diuréticos, sobrecarga de volumen, presencia de insuficiencia mitral, maniobra de Valsalva, etc.).(38) Existen otros parámetros cuantificables como el flujo venoso pulmonar, la velocidad de propagación del flujo en modo M-color, el doppler tisular (DT) del anillo mitral que permiten hacer una evaluación más completa. Las actuales guías para la evaluación de la función diastólica proponen una evaluación teniendo en cuenta el conjunto de todos ellos y evitar conclusiones basadas en una única medida (figura 10 y tabla 4) <sup>(39,40)</sup>.



**Figura 10. Patrones ecocardiográficos de disfunción diastólica**

Reproducido y adaptado de Martín-García A et al<sup>(40)</sup>.

AI: aurícula izquierda; DC: Doppler color; DP: Doppler pulsado; ECG: electrocardiograma; TDI: Doppler tisular; VI: ventrículo izquierdo

De todos estos parámetros el que mejor se correlaciona con la rigidez ventricular es el TDM. Un tiempo de desaceleración de la onda E mitral acortado traduce una rápida igualación de las presiones entre aurícula izquierda y ventrículo izquierdo. TDM se correlaciona con la presión intraventricular y de forma inversa con la rigidez del ventrículo izquierdo<sup>(41,42)</sup>. El tiempo de tránsito de la onda A es otra medida subrogada de la rigidez ventricular izquierda aunque no se suele reportar en los estudios ecocardiográficos de rutina<sup>(43)</sup>. Mediante ecocardiografía también es posible realizar una estimación directa la rigidez ventricular izquierda y obtenerse las curvas de presión-volumen diastólicas incluso de la distensibilidad en fin de diástole aunque implica cálculos algo más complejos y su uso no está extendido<sup>(33,39)</sup>.

**Tabla 4. Datos ecocardiográficos de fisiología restrictiva**

<b>Doppler Mitral-Tricuspídeo</b>
E mitral >1 m/s, E tricuspídea >0,7 m/s A mitral <0,5 m/s, A tricuspídea <0,3 m/s E/A ≥2 TDM <160 ms TRIV <70 ms Ausencia de variación respiratoria significativa de E mitral y tricuspídea (<15%)
<b>Doppler Tisular</b>
S septal <5 cm/s E septal < 7 cm/s
<b>Doppler venas pulmonares / suprahepáticas</b>
Onda S < onda D Aumento de la duración y la velocidad de la onda Ar (v. pulmonar) Aumento inversión flujo diastólico en inspiración (vs. Suprahepáticas)

En presencia de fibrilación auricular (FA), hallazgo nada infrecuente en pacientes con MCR, la evaluación de la función diastólica se ve limitada por la variabilidad de los ciclos cardiacos y la ausencia de actividad auricular organizada (onda A). Algunos parámetros que pueden ser útiles son la tasa de aceleración pico de la velocidad E mitral ( $\geq 1,900 \text{ cm/s}^2$ ), TRIV ( $\leq 65 \text{ ms}$ ), DT de flujo diastólico venoso pulmonar ( $\leq 220 \text{ ms}$ ), cociente E/Vp ( $\geq 1,4$ ) y cociente E/e' septal ( $\geq 11$ ) <sup>(39)</sup>.

La fisiología restrictiva no es un hallazgo específico de la MCR si no que puede verse en fases avanzadas de insuficiencia cardiaca de prácticamente cualquier etiología siendo un marcador de mal pronóstico asociado a una mayor mortalidad <sup>(44)</sup>. En un metaanálisis que incluyó 3024 pacientes procedentes de 26 estudios prospectivos, se analizó el valor pronóstico del patrón restrictivo en distintas cardiopatías, encontrándose que la mortalidad en el grupo con patrón restrictivo (n=1284) era mayor con un OR de 4,36 (IC 95% 3,60-5,04) frente a otros tipos disfunción diastólica no restrictiva. En el subanálisis según la etiología de la ICC también se mantuvo este

incremento de la mortalidad siendo incluso mayor en el subgrupo de MCD idiopática y patrón restrictivo con un OR de 6,65 (IC 95% 3,85-11,47) <sup>(45)</sup>.

La fisiología restrictiva puede presentarse en fases avanzadas de otras miocardiopatías por lo que el solapamiento clínico puede hacer difícil el diagnóstico <sup>(46)</sup>. En la MCH no es un hallazgo infrecuente condicionando negativamente el pronóstico <sup>(47,48)</sup>.

## **1.4. Historia natural y tratamiento de la MCR**

### **1.4.1. Insuficiencia cardíaca congestiva.**

Tras la primera clasificación de las miocardiopatías de 1980 <sup>(4)</sup> se publicaron diversas series de pacientes con criterios de MCR en las que se analizaba el curso clínico de la enfermedad. Uno de los primeros análisis recogía 22 pacientes evaluados desde 1980 a 1985 y concluía que el 95% de los pacientes alcanzaban estadios avanzados de ICC con NYHA III o IV, con un tiempo de evolución de los síntomas de 5 años <sup>(49)</sup>. Hasta la fecha la serie más larga reportada de pacientes con MCR idiopática procedía de la Clínica Mayo e incluyó a 94 pacientes <sup>(18)</sup>. En la evaluación inicial el 81% tenían deterioro de la clase funcional (28% en NYHA III o IV). Tras un seguimiento medio superior a 5 años, el 50% de los pacientes habían fallecido (68% por causas cardiovasculares) y 4 (5%) habían precisado TXC <sup>(18)</sup>. Las principales series de pacientes con MCR idiopática con sus características basales y su evolución clínica se resumen en la tabla 5.

Con respecto a la disfunción sistólica del ventrículo izquierdo, inicialmente se consideraba un criterio de exclusión para el diagnóstico de MCR, aunque actualmente se conoce que no es un hallazgo infrecuente. En la serie de Ammass y cols. el 16% de los pacientes tenía disfunción ventricular sistólica (FEVI<50%) en la evaluación inicial

<sup>(18)</sup>. En otra serie de más antigua de pacientes con MCR que precisaron TXC, los rangos de FEVI fueron del 40 al 55% <sup>(50)</sup>.

**Tabla 5. Evolución de la MCR idiopática: principales series de pacientes adultos**

Referencia	N	Población	Eco/Hemo	Seguimiento	Eventos
Benotti JR et al. 1980 <sup>(51)</sup>	9	23-57 años; 3 F	FEVI*=63±8%	22 (16-42) meses	Un fallecido. 2 en NYHA III. 4 NYHA II.
Siegel RJ et al. 1984 <sup>(26)</sup>	4	59-77 años; 0 F	FEVI*=61%	9 (4-14) años	1 MS; 2 muerte por ICC; 1 muerte periprocedimiento
Hirota Y et al. 1990 <sup>(52)</sup>	26	5-63 años; 12 F	-	145 meses (12 años)	10 fallecieron; 8 fenómenos embólicos
Katritsis D et al. 1991 <sup>(53)</sup>	10	22,7±13,8 años; 7 F	2P con FEVI*<50%	117±57 meses (10±5 años)	3 fallecieron 2 TxC (20%)
Ammash NM et al. 2000 <sup>(18)</sup>	94	64 (10-90) años; 57 F	FEVI 59% (18-80) IC=2,4 (1-4,7) ml/min/m <sup>2</sup> 15P con FEVI<50%	68 (1-128) meses	47 fallecieron (22 por ICC, 8 MS, 5 arritmias, 2 ACV). 32 (68%) eventos cardiovasculares. 46 vivos: 46% NYHA II, 17% NYHA III; 4 TxC (5%)

\*FEVI mediante angiocardiografía. ACV: accidente cerebrovascular; Eco.: ecocardiografía; F: mujeres; FA: fracción de acortamiento; FEVI: fracción de eyección ventrículo izquierdo; Hemo.: hemodinámica; IC: índice cardíaco; ICC: insuficiencia cardíaca; MGVI: máximo grosor ventrículo izquierdo; MS: muerte súbita; TxC: trasplante cardíaco.

### **1.4.2. Otras complicaciones.**

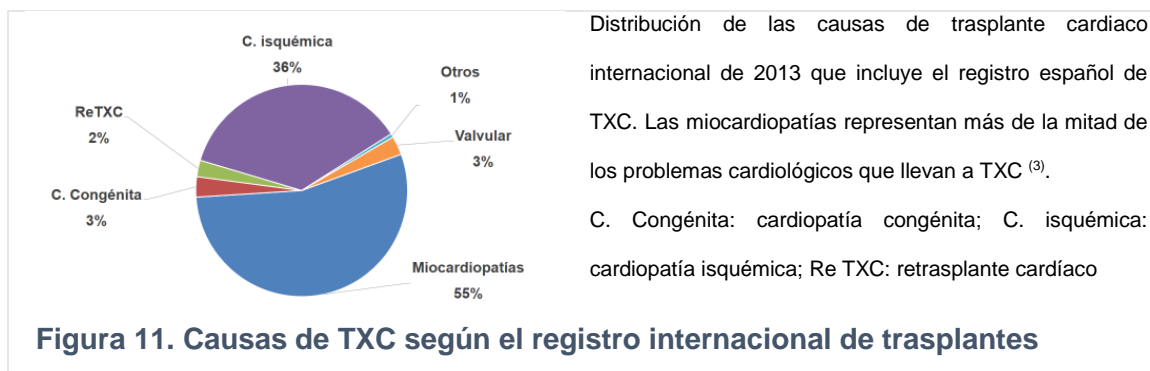
La caída en FA suele ser causa de deterioro de la clase funcional e ICC en los pacientes con MCR debido a dos componentes: la taquicardización con la consecuente disminución o incluso desaparición del tiempo de diástasis (de por sí ya comprometida) y la pérdida de contribución de la contracción auricular al llenado ventricular. Más de tres cuartas partes de los pacientes con MCR tienen FA <sup>(18)</sup> y hasta un tercio de los pacientes pueden debutar con complicaciones cardioembólicas <sup>(52)</sup>.

### **1.4.3. Tratamiento.**

No existe un tratamiento específico para la MCR. Se basa en el alivio de síntomas (fundamentalmente congestivos) mediante el empleo de diuréticos, control de frecuencia cardíaca (o mantenimiento del ritmo sinusal si es posible) y en la prevención de complicaciones cardioembólicas. El uso de anticoagulantes en ausencia de FA de manera preventiva se ha recomendado en el pasado aunque actualmente no existe evidencia suficiente <sup>(20)</sup>. En los pacientes con disfunción sistólica el manejo farmacológico es de acuerdo a las guías de práctica clínica de insuficiencia cardíaca <sup>(54)</sup>.

### **1.4.4. Trasplante Cardíaco.**

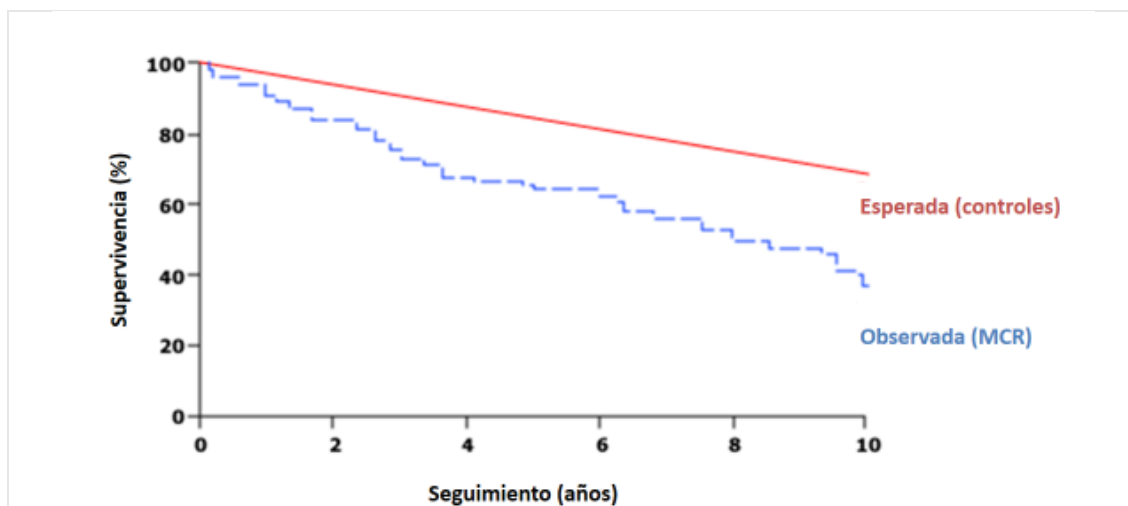
La necesidad de trasplante cardíaco (TXC) se ha reportado con porcentajes variables (4-20%) en series de adultos con MCR <sup>(18,53)</sup> siendo aún mayor en pacientes pediátricos, en los que la enfermedad parece tener un curso clínico más agresivo <sup>(46)</sup>. En pacientes adultos los TXC por miocardiopatías representan hasta el 55% de los TXC en todo el mundo (figura 11) <sup>(3)</sup>. Según datos de la Organización Nacional de Trasplantes, la miocardiopatía restrictiva representó en 2012 un 4,2% de los pacientes en lista de espera y 4,5% de los TXC <sup>(55)</sup>.



La MCR idiopática supone en torno a un 1% de los pacientes con trasplante cardíaco o cardiopulmonar. Según datos del registro americano de trasplantes, de 38190 TXC realizados entre 1987 y 2010, 227 (0,6%) tenían el diagnóstico de MCR idiopática <sup>(56)</sup>. En el Hospital Universitario Puerta de Hierro 21 pacientes recibieron TXC por MCR idiopática entre 1984 y 2010, lo que supone un 2,7% del total de diagnósticos pretrasplante (datos no publicados).

#### 1.4.5. Pronóstico.

En la serie de Ammash et al. la supervivencia de los pacientes con MCR estaba claramente disminuida comparada con la esperable en controles ajustados por sexo y edad (figura 13). Los parámetros que se relacionaron de manera independiente con la mortalidad por cualquier causa fueron el sexo masculino, la edad superior a 70 años, la clase funcional de la NYHA, y el diámetro de la aurícula izquierda superior a 60 mm <sup>(18)</sup>.



**Figura 12. Supervivencia de los pacientes con MCR idiopática**

Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier de los 94 pacientes con MCR idiopática comparada con la esperable según un grupo de controles (por edad y sexo). La supervivencia es significativamente menor en los pacientes con MCR a los 5 años (64 vs. 85%) y a los 10 años (37 vs. 70%,  $p < 0,0001$ ). *Reproducido de Ammash NM et al* <sup>(18)</sup>.

El pronóstico es especialmente malo en población pediátrica con una mediana de supervivencia inferior a los dos años desde el inicio de los síntomas de ICC <sup>(57-59)</sup>. La supervivencia de los niños con MCR es inferior a otras miocardiopatías en la infancia como la MCD o la MCH, precisando TXC de forma más precoz <sup>(23)</sup>. También se ha descrito MS en estos pacientes, especialmente en poblaciones pediátricas (14-27%) <sup>(58,59)</sup> aunque en adultos la incidencia de MS tampoco es despreciable (8,5%) <sup>(18)</sup>.

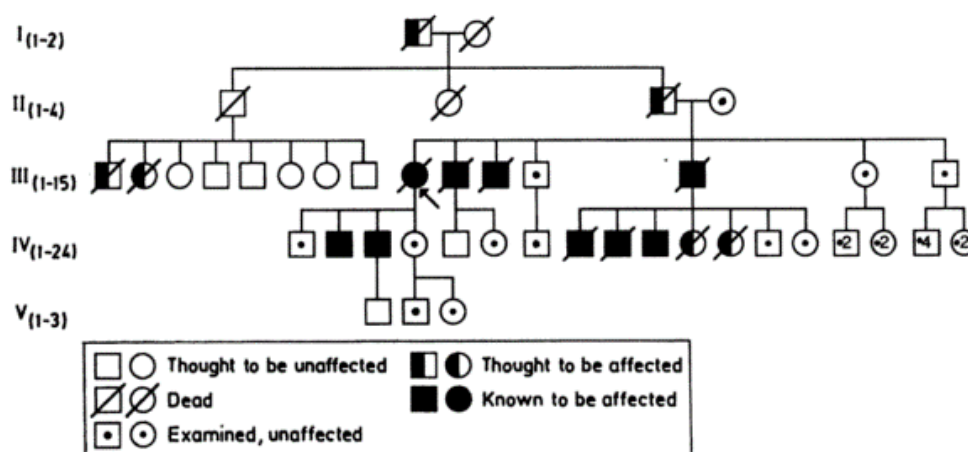
En un análisis de los pacientes excluidos o fallecidos en lista de TXC dentro de un registro americano, en el grupo de los 296 pacientes con MCR (en este caso no diferenciaba etiologías) 41 (14%) fallecieron antes de TXC y 40 (13,5%) fueron sacados de lista de TXC. De éstos, 19 (47,5%) fue debido a empeoramiento clínico y sólo 9 (22%) por mejoría. Entre los factores predictores independientes de mortalidad en los pacientes excluidos de la lista de TXC se encontraban el diagnóstico de MCH (HR=2,2) y MCR (HR=2) <sup>(60)</sup>.



## 1.5. Bases genéticas de la MCR

### 1.5.1. MCR familiar

La existencia de una base genética en la MCR fue descrita a finales de los 80. En 1988 se describió la primera MCR familiar en la que estaban afectados un paciente y su hija <sup>(61)</sup>. En 1990 se publica una gran familia italiana de 5 generaciones y 15 casos con miopatía y afectación cardíaca en forma de trastornos de la conducción tipo bloqueo auriculoventricular (BAV) y MCR. Esta publicación confirmó la posibilidad de una causa genética en la MCR con un patrón de herencia autosómico dominante (figura 14) <sup>(62)</sup>. Posteriormente se describieron individuos con MCH y MCR dentro de una misma familia lo que hizo sospechar una base genética común <sup>(63)</sup>. El hallazgo en 1997 del patrón histológico de desorganización miofibrilar (“disarray”) característico de la MCH en corazones de pacientes fallecidos o trasplantados por MCR sustentó aún más la teoría de un origen molecular común <sup>(29)</sup>. En series pediátricas de MCR se ha llegado a reportar entre un 16% y un 30% de antecedentes familiares de miocardiopatía <sup>(22,64)</sup>.



**Figura 13. Primera gran familia descrita con MCR, BAV y miopatía**

Reproducido de Fitzpatrick AP et al <sup>(62)</sup>.

### 1.5.2. Genes relacionados con MCR.

En el año 2003 Mogensen et al. Identificaron por primera vez una mutación causal de MCR en un gen sarcomérico <sup>(65)</sup>. Diagnosticaron a un chico y su madre con MCR que tenían múltiples antecedentes de MS familiar. En el estudio clínico de otros familiares comprobaron que en la familia existían otros individuos con criterios de MCR y de MCH. Propusieron realizar un estudio genético mediante análisis de ligamento de los principales genes sarcoméricos ya relacionados con MCH y encontraron que el gen más probablemente causal era el de la troponina I (*TNNI3*) documentando posteriormente una mutación tipo *missense* (p.Asp190His) que cosegregaba con la cardiopatía. A raíz de este hallazgo secuenciaron este mismo gen en 9 pacientes no emparentados con diagnóstico de MCR identificando mutaciones causales en *TNNI3* en otros seis de ellos <sup>(65)</sup>. En los años siguientes se han sucedido publicaciones de casos y series pequeñas que relacionan la MCR con otros genes sarcoméricos: *TNNT2*, *ACTC1*, *MYH7*, *TPM1*, *MYL3* y *TTN* <sup>(66-70)</sup>.

Otro grupo importante de MCR hereditaria lo constituyen las mutaciones en el gen de la desmina (*DES*). La MCR por depósitos de desmina fue descrita por primera vez en 1990 en una niña que además tenía miopatía esquelética <sup>(71)</sup>. Se caracteriza por la afectación de músculo esquelético y trastornos de la conducción cardiacos con alta incidencia de BAV y necesidad de marcapasos <sup>(29,72)</sup>. En el año 2000 Dalakas et al. publican la primera serie de pacientes con mutaciones en el gen de la desmina (*DES*) en la que incluyen una familia con dos casos de MCR <sup>(73)</sup>. Dentro de las desminopatías se incluyen las alteraciones en la alfa B cristalina (*CRYAB*) una chaperona de la desmina. La desmina es una proteína que forma parte de los filamentos intermedios del citoesqueleto presente en miocitos y miocardiocitos y actúa como elemento de soporte. La proteína anómala precipita en forma de agregados granulares y filamentosos causando disfunción celular. Estas inclusiones citoplasmáticas se pueden detectar mediante estudios ultraestructurales (microscopía electrónica) e

inmunohistoquímica con anticuerpos anti-desmina <sup>(29,73)</sup>. Sin embargo, en la serie de Arbustini et al. de pacientes miocardiopatía por desmina, refieren que el estudio de muestras de BEM no fue suficientemente específico para demostrar la existencia de depósitos <sup>(74)</sup>. Pese a que sólo se ha descrito una única familia con miopatía y miocardiopatía no especificada asociada a la mutación p.R120G en *CRYAB* <sup>(75)</sup> el gen *CRYAB* está incluido dentro de los genes que habitualmente se aceptan como causales de MCR <sup>(7)</sup>. Estudios funcionales en ratones portadores de la misma mutación mostraron la inducibilidad de disfunción cardíaca asociada a depósito amiloide reversible al desaparecer la expresión de la proteína mutada <sup>(76-78)</sup>. Muy recientemente también se ha documentado MCR asociada a miopatía miofibrilar por mutaciones en *BAG3*, gen que codifica por una proteína con función antiapoptótica localizada en el disco Z del sarcómero. Este gen se había relacionado fundamentalmente con MCD <sup>(79)</sup>.

Hasta la fecha, la serie más larga de pacientes con MCR idiopática y estudio genético incluyó 12 casos pediátricos y fue publicada por Kaski et al en 2008 <sup>(46)</sup>. De 33 pacientes iniciales, tras excluir fallecidos sin muestra disponible, MCR asociada a miopatías, síndromes, cardiopatías congénita o aquellos con solapamiento con otras miocardiopatías (MCH, MCD o MCNC) pudieron realizar el estudio genético a 12 pacientes. En el análisis genético secuenciaron 8 genes sarcoméricos (*TNNI3*, *MYH7*, *TNNT2*, *MYL2*, *MYL3*, *TPM1*, *MYBPC3*, *ACTC1*) y el gen de la desmina encontrando que 4 pacientes tenían mutaciones patogénicas en genes sarcoméricos (*TNNI3*, *TNNT2* y *ACTC1*) <sup>(46)</sup>.

En adultos no existen apenas series de pacientes con MCR idiopática sometidos a estudio genético. Existen dos trabajos en los que a partir de pacientes con diagnóstico de MCH, buscaron cuáles cumplían criterios diagnósticos de MCR en ausencia de hipertrofia ventricular significativa <sup>(48,80)</sup>. Kubo et al. establecieron el límite para definir “fenotipo restrictivo” en un grosor máximo de  $\leq 15$  mm. Identificaron 19 pacientes de 16 familias de un total de 1226 pacientes con MCH y realizaron estudio genético de 5

genes sarcoméricos (*MYH7*, *MYBPC3*, *TNNT2*, *TNNI3*, *TPM1*) en 15 probandos. Encontraron mutaciones en 8 pacientes, distribuidas entre dos genes *MYH7* (4) y *TNNI3* (4) <sup>(48)</sup>. Rai et al. estudiaron pacientes de una población de indios asiáticos con fisiología restrictiva y los subclasificaron en MCR o MCH según el grosor de pared ventricular (no especifican el punto de corte). Referían que 10 pacientes cumplían criterios de MCR y 7 de MCH. Realizaron a todos estudio genético de 2 genes sarcoméricos (*MYH7* y *TNNI3*) encontrando una mutación en *MYH7* en un paciente con MCR y una mutación en *TNNI3* en un paciente con MCH con antecedentes familiares de MCR en primer grado (padre y hermana) <sup>(80)</sup>.

La MCR hereditaria también puede aparecer en el contexto de síndromes (ej. síndrome de Noonan con varios genes implicados) <sup>(81,82)</sup> o enfermedades sistémicas infiltrativas o por depósito. Por ejemplo, se ha descrito asociada con patrón de herencia dominante ligado al cromosoma X en la enfermedad de Fabry (gen *GLA*) y en el síndrome de Danon (gen *LAMP2*) <sup>(30,83,84)</sup>. También puede deberse a alteraciones del DNA mitocondrial <sup>(85,86)</sup>.

Los genes que se han implicado en la MCR según se presente en forma primaria o secundaria en el contexto de enfermedades sistémicas se resumen en las tablas 6 y 7.

### 1.5.3. Recomendaciones sobre el estudio genético en la MCR.

Los documentos de consenso más recientes sobre el estudio genético en miocardiopatías se han publicado entre 2009 y 2013 <sup>(9,15,16,87)</sup>.

Hasta la fecha no se han realizado estudios genéticos amplios en pacientes adultos aquejados de MCR por lo que se desconoce qué genes son más rentables analizar en estos casos. Esta falta de estudios ha provocado que las recomendaciones para la realización de estudios genéticos de la Sociedad Europea de Cardiología no establezcan la estrategia de screening genético que se debe adoptar en los pacientes con MCR <sup>(9)</sup>. Se considera que aunque es posible la existencia de una base genética,

la rentabilidad del estudio genético es desconocida. Salvo en los casos en los que coexistan otros síntomas o signos que sirvan de alerta (ej. MCR que cursa con miopatía y BAV es muy sugestivo de desminopatía) el estudio genético se considera que será poco útil. En cuanto a los genes que se deberían testar, en algunos documentos se incluyen algunos sarcoméricos como *TNNI3* y *MYH7*. Si existen otros datos clínicos orientativos de etiologías concretas recomiendan analizar *DES*, *HFE* y *TTR* <sup>(9)</sup>. En la tabla 8 se muestra un resumen de las recomendaciones de las guías publicadas más recientes <sup>(9,15,16,87)</sup>.

Tabla 6. Genes relacionados con MCR

Gen	Proteína	MIM	Localización	Otros fenotipos	Herencia	Referencia
<b>ACTC1</b>	Actina alfa del músculo cardíaco	102540	Sarcómero	MCNC, MCH, MCD. Miopatía nemalínica	AD	(67)
<b>BAG3</b>	BLC2-asociado a athanogene 3	603883	Disco Z	MCD, MCH. Miopatía miofibrilar y miopatía relacionada con CRYAB.	AD	(7,79)
<b>CRYAB</b>	Alfa beta cristalina	123590	Citoesqueleto	MCD, MCH. Catarata polar posterior, miopatía miofibrilar	AD	(7,75)
<b>DES</b>	Desmina	125660	Citoesqueleto	MCD, MCH, BAV. Miopatía miofibrilar (↑CPK), amiotrofia escapulooperoneal tipo Kaeser	AD	(73,74)
<b>FHL1</b>	Proteína FHL1 ("four and a half Lim domain 1")	300163	Citoesqueleto	MCD, MCH, WPW. Miopatía (↑CPK), EDMD, RBM, XMPMA	Ligada al X	(88)
<b>LMNA</b>	Lamina	150330	Membrana nuclear	MCD, MCAVD, BAV. Miopatía (↑CPK), EDMD, Lipodistrofia, otros	AD	(89)
<b>MYH7</b>	Cadena pesada de la beta miosina	160760	Sarcómero	MCD, MCH, MCNC. Miopatía (↑CPK), síndrome escapulooperoneal	AD	(68,90,91)
<b>MYL3</b>	Cadena ligera esencial	160790	Sarcómero	MCH	AD, AR	(69,92)
<b>MYPN</b>	Miopaladina	608517	Disco Z	MCD, MCH	AD	(93,94)

<b>TNNI3</b>	Troponina I cardíaca	191044	Sarcómera	MCD, MCH	AD	(46,65)
<b>TNNC1</b>	Troponina C cardíaca	191040	Sarcómera	MCD, MCH	AD	(7,95)
<b>TNNT2</b>	Troponina T cardíaca	191045	Sarcómera	MCD, MCH, MCNC	AD	(46,66,96)
<b>TPM1</b>	Tropomiosina	191010	Sarcómera	MCD, MCH	AD	(69)
<b>TTN</b>	Titina	188840	Sarcómera	MCD, MCH. Distrofia muscular (varias)	AD	(70)

AD: autosómica dominante; CPK: creatinin fosfokinasa; EDMD: Emery-Dreifuss muscular dystrophy; MCAVD: miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho; MCD: miocardiopatía dilatada; MCH: miocardiopatía hipertrófica; MCNC: miocardiopatía no compactada; RBM: reducing body myopathy; XMPMA: X-linked myopathy with postural muscle atrophy

Tabla 7. Genes relacionados con MCR en el contexto de enfermedades sistémicas

Gen	Enfermedad	MIM	Otros fenotipos	Herencia	Referencia
<b>AGL</b>	GSDIII (enfermedad de Forbes)	232400	MCH  Afectacion hepática, miopatía, hipocluemia, retraso del crecimiento	AR	(20,21)
<b>GAA</b>	GSDII (enfermedad de Pompe)	232300	MCH  Afectacion hepática, miopatía	AR	(20,21)
<b>GBA</b>	Enfermedad de Gaucher (deficiencia de glucocerebrosidasa)	230800	Calcificaciones cardiovasculares  Afectación sistémica	AR	(20,21)
<b>GLA</b>	Enfermedad de Fabry	301500	MCH  Afectación renal, ocular, nerviosa, cutánea y gastrointestinal	Dominante ligada al X	(20,21,30)
<b>HFE</b>	Hemocromatosis	613609	MCH, MCD  Afectación hepática, DM, endocrina	AR	(20,21)



<b>IDUA</b>	MPS I (Enfermedad de Hurler)	252800	MCH  Afectación nerviosa, hepática, articular, ocular, cutánea y respiratoria	AR	(20,21)
<b>LAMP2</b>	Enfermedad de Danon	309060	MCH, MCD	Dominante ligada al X	(83,84)
<b>TTR</b>	Polineuropatía amiloidótica familiar	176300	MCH  Polineuropatía sensitivo-motora, Disautonomía, afectación gastrointestinal	AD	(21,97)

AD: autosómica dominante; AR: autosómica recesiva; GSD: enfermedad por depósito de glucógeno; MCD: miocardiopatía dilatada; MCH: miocardiopatía hipertrófica; MPS: mucopolisacaridosis.

**Tabla 8. Recomendaciones para el estudio genético y familiar en la MCR idiopática**

	<b>AHFS 2009</b>	<b>ESC 2010</b>	<b>HRS/EHRA 2011</b>
<b>Origen genético</b>	Desconocido	Posible	Posible
<b>Indicación de estudio genético</b>	Nivel evidencia C	Cuestionable salvo en algunos fenotipos concretos*	Clase IIb si historia familiar o algunos fenotipos concretos
<b>Genes a estudio</b>	Desconocido	<i>TNNI3</i> ± otros sarcoméricos  * <i>DES, TTR, HFE</i>	<i>MYH7, TNNI3</i>
<b>Rentabilidad del estudio genético</b>	Desconocido	Desconocido	Desconocido
<b>Estudio familiares</b>	Nivel evidencia B	Inicio a los 10-20 años, cada 1-2 años  Después de los 20 años cada 2-5 años hasta los 50-60	Clase I si se ha identificado mutación causal

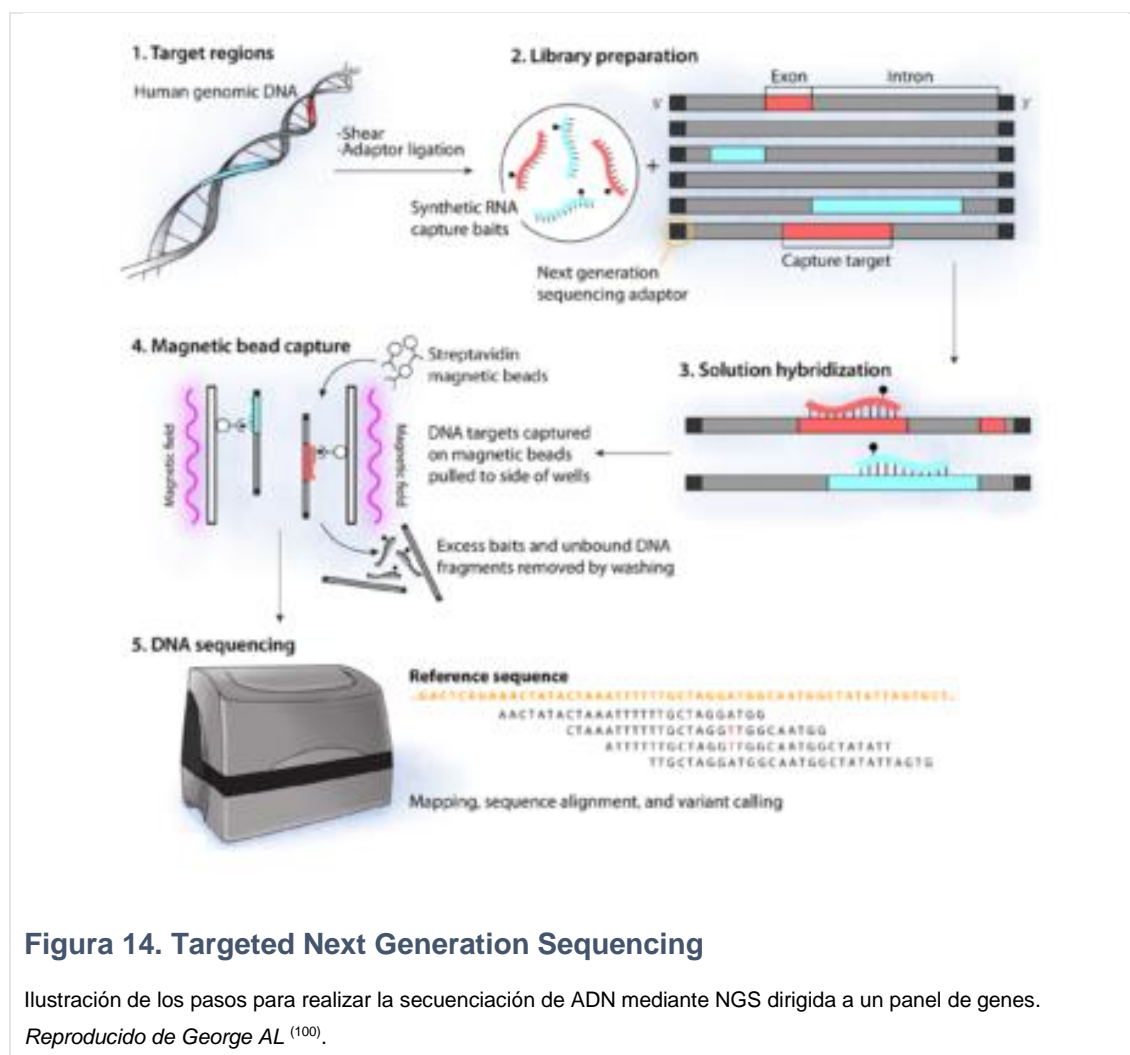
\*En presencia de fenotipos concretos. AHFS: American Heart Failure Society; ESC: European Society of Cardiology; HRS: Heart Rhythm Society; EHRA: European Heart Rhythm Association <sup>(9,15,16)</sup>.

## 1.6. Técnicas de secuenciación masiva: NGS

La secuenciación es la determinación del orden de nucleótidos en un fragmento de ADN y compararlo con un código de referencia. Hasta hace pocos años la única técnica que existía para detectar mutaciones puntuales era la secuenciación tipo Sanger, basada en la reacción en cadena de la polimerasa. Sigue siendo la técnica de referencia con una sensibilidad y especificidad cercana al 100% aunque su gran inconveniente son las limitaciones para secuenciar muchos genes a la vez, debido a los costes en tiempo y dinero.

Las nuevas tecnologías de secuenciación masiva (*Next generation sequencing*, NGS) han permitido pasar de una estrategia de estudio de uno o pocos genes específicos al análisis de millones de pares de bases en paralelo. Se obtienen resultados en un tiempo más corto y a un coste más asequible (aunque los requerimientos tecnológicos son caros, el precio por base secuenciada es menor). Para aumentar la rentabilidad, se pueden secuenciar sólo aquellas regiones de interés conocidas de la patología estudiada (figura 14) <sup>(98-100)</sup>.

En las cardiopatías familiares es interesante el empleo de NGS dada su heterogeneidad genética e incluso la existencia de algunos casos con más de una mutación en distintos genes (heterocigosis compuesta). A su vez un mismo gen puede ser causa de varios fenotipos (solapamiento). Sin embargo, existen inconvenientes inherentes a la prueba como son que determinadas zonas del genoma son de difícil cobertura (por su simplicidad o poca longitud) o la dificultad de la técnica para detectar inserciones/delecciones. En ambos casos puede ser necesario recurrir a la técnica de Sanger. El llamado cuello de botella en las técnicas de secuenciación masiva se encuentra a día de hoy en el análisis de los resultados que hace necesario el desarrollo de complejos sistemas bioinformáticos.



**Figura 14. Targeted Next Generation Sequencing**

Ilustración de los pasos para realizar la secuenciación de ADN mediante NGS dirigida a un panel de genes.

Reproducido de George AL <sup>(100)</sup>.

El empleo de NGS con paneles de genes relacionados previamente con una patología es una estrategia que se ha empleado con éxito en el campo de las miocardiopatías (98,101-103). La ventaja es que el número de datos es menor y que muchos de estos genes ya han sido previamente estudiados estructural y funcionalmente, por lo que la interpretación de las variantes encontradas es mucho más sencilla (mutaciones patogénicas ya conocidas o disponibilidad de estudios funcionales de mutaciones similares en la misma posición). La principal desventaja es que no existe la oportunidad de descubrir mutaciones en nuevos genes. La alternativa al NGS dirigido a un panel de genes es la secuenciación del exoma completo. En este caso sería posible descubrir nuevos genes causales, aunque siguen existiendo regiones con poca

cobertura y la cantidad de variantes identificadas es mucho mayor por lo que para su interpretación es necesario disponer de importante soporte bioinformático y amplias bases de datos de variantes. También tiene el inconveniente de los hallazgos incidentales y la duda de cómo y cuándo deben ser informados a los pacientes. Una buena aplicación del exoma es su utilización para la búsqueda de nuevos genes causales en familias con varios casos afectados con fenotipos bien caracterizados <sup>(99,104)</sup>.

## **2. OBJETIVOS DEL ESTUDIO**

### **2.1. Objetivo principal**

Determinar la base genética de la MCR idiopática en fase avanzada de la enfermedad

### **2.2. Objetivos concretos**

1. Cuantificar la prevalencia de mutaciones en genes ligados a miocardiopatías en una cohorte de pacientes en programa de TXC a causa de una miocardiopatía restrictiva idiopática.
2. Establecer cuál es la rentabilidad del estudio genético en la miocardiopatía restrictiva mediante el empleo de las nuevas técnicas de secuenciación masiva NGS.
3. Establecer, mediante el análisis exhaustivo de las diversas pruebas que se realizan antes del TXC, si los pacientes con MCR de causa genética tienen alguna característica fenotípica diferencial.
4. Conocer en base al estudio genético y el análisis familiar el porcentaje de pacientes con MCR idiopática en los que la enfermedad tiene una base hereditaria.

### **3. HIPÓTESIS DEL ESTUDIO**

#### **3.1. Hipótesis conceptual**

Una parte sustancial de los pacientes con MCR idiopática en estadio terminal de ICC, su enfermedad tiene un origen genético. Se desconoce cuál es el espectro genético de esta enfermedad.

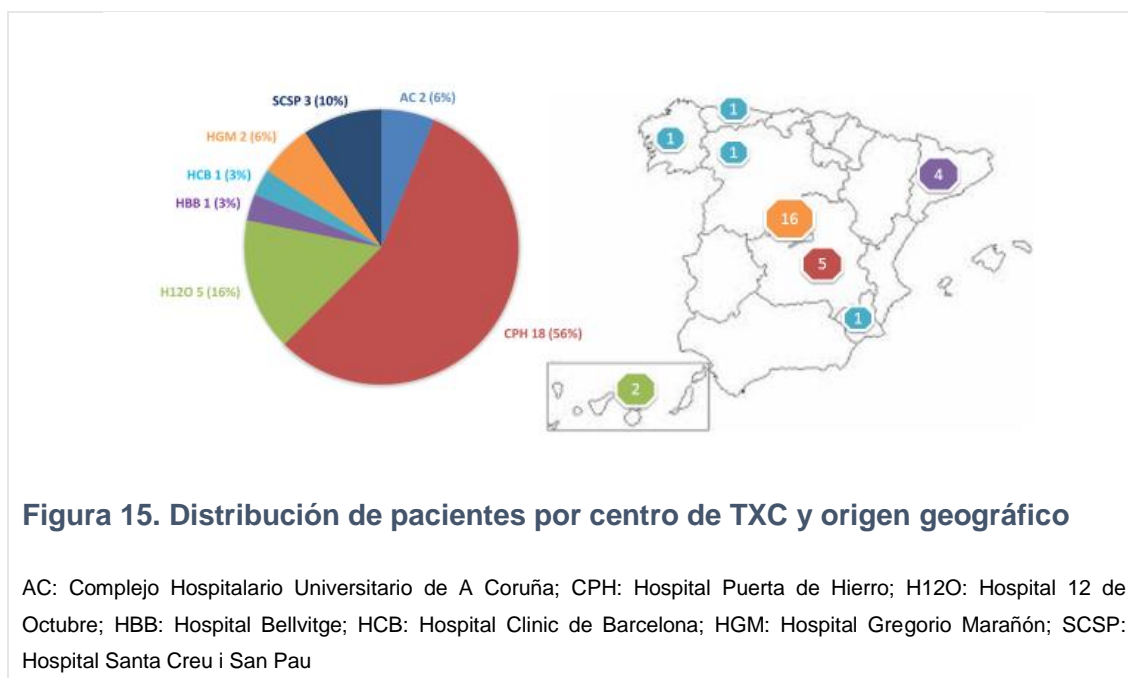
#### **3.2. Hipótesis operativa**

El estudio de pacientes que han recibido un trasplante cardíaco por MCR idiopática y sus familias empleando técnicas modernas de ultrasecuenciación permitirá mostrar el espectro genético de esta enfermedad, conocer la rentabilidad del estudio genético empleando estas pruebas modernas y realizar estudios de correlación genotipo-fenotipo.

## 4. PACIENTES Y MÉTODOS

#### 4.1. Diseño del estudio

Estudio transversal multicéntrico descriptivo de las características clínicas y genéticas de 32 pacientes no emparentados evaluados en Unidades de TXC debido una MCR en siete centros españoles: Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Hospital Universitario 12 de Octubre y Hospital Universitario Gregorio Marañón de Madrid; Hospital de la Santa Creu i San Pau, Hospital Clinic y Hospital Universitario de Bellvitge, de Barcelona y Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña. En la figura 15 se muestra la distribución de los pacientes según el centro de referencia y su procedencia geográfica.



Este estudio ha sido aprobado por los comités éticos de investigación clínica de los hospitales participantes y cumple con los requisitos de la Ley de Investigación Biomédica 14/2007 y con la Declaración de Helsinki.



## 4.2. Población de estudio

### 4.2.1. Selección de pacientes.

Se incluyeron pacientes que cumplieran criterios diagnósticos de MCR <sup>(1,5)</sup> en la evaluación inicial pre-TXC:

- fisiología restrictiva (ver tablas 3 y 4) con dilatación biauricular.
- ausencia de hipertrofia ventricular significativa (máximo grosor de pared <15 mm)  
(105,106)
- ausencia de dilatación significativa de ventrículo izquierdo (diámetro telediastólico <117% del calculado por la fórmula de Henry) <sup>(107)</sup>
- ausencia de pericarditis constrictiva

Fueron excluidos los pacientes con MCR secundaria a enfermedad metabólica o infiltrativa conocida (ej. amiloidosis) o fisiología restrictiva en el contexto de cardiopatía isquémica o enfermedad endomiocárdica (tabla 2).

Aunque la existencia de disfunción sistólica ventricular no se consideró un criterio de exclusión se investigaron las características clínicas en los centros de referencia y los hallazgos familiares en los pacientes que mostraron FEVI<45% en la evaluación preTxC.

Un paciente fue excluido del estudio tras el análisis genético por tratarse de una MCR asociada a una comunicación interauricular tipo seno venoso. Aunque no está clara la relación causa-efecto entre la cardiopatía congénita y la MCR, se decidió finalmente no incluirlo en el estudio atendiendo a la definición de miocardiopatía <sup>(1)</sup>. De cualquier forma por el interés de los hallazgos encontrados, este último caso se discute en el apéndice 3.

#### **4.2.2. Recogida de datos.**

Se recogió la información de la evaluación clínica inicial pretrasplante disponible: historia clínica, antecedentes familiares, ECG, ecocardiograma, test de la marcha de los 6 minutos, prueba de esfuerzo con consumo de oxígeno y cateterismo cardíaco. Adicionalmente y según criterio médico algunos pacientes también fueron estudiados mediante Holter-ECG de 24 horas, resonancia magnética cardíaca, estudio electrofisiológico y BEM. La recogida de datos clínicos fue retrospectiva mediante la revisión de los historiales clínicos y sin conocer los resultados del estudio genético.

### **4.3. Estudio genético**

#### **4.3.1. Análisis genético.**

El ADN se obtuvo a partir de muestras de sangre de los probandos y se almacenó a -70°C. Las muestras fueron enviadas a un laboratorio externo especializado en cardiopatías familiares (*Health in Code*) donde fueron analizadas mediante NGS con un panel de 209 genes relacionados con cardiopatías hereditarias incluyendo todos los exones codificantes y las regiones intrónicas flanqueantes (tabla 9 y apéndice 2). Un total de 77 de esos genes han sido relacionados con miocardiopatías (MCH, MCD y/o MCR). La secuenciación de las zonas seleccionadas se llevó a cabo mediante sistema de enriquecimiento *SureSelect* (Agilent) con diseño de las sondas mediante *eArray* (Agilent). Se empleó una plataforma Illumina HiSeq 1500. El análisis de los resultados se realizó con un sistema bioinformático desarrollado y validado internamente por *Health in Code*. Tres muestras (pacientes #18, #28 y #31) tenían una calidad del ADN subóptima y la cobertura fue baja (<30 veces) en más de 10% de los fragmentos. La cobertura media general en las 28 muestras restantes fue x341 con más del 96% de los fragmentos cubiertos más de 30 veces. La cobertura media de los

77 genes relacionados con miocardiopatías fue x350 con más del >95% de los fragmentos cubiertos más de 30 veces. Se utilizó secuenciación Sanger para confirmar las variantes genéticas encontradas y evaluar los fragmentos con baja cobertura en los genes más relevantes.

**Tabla 9. Genes analizados**

<b>ABCC9</b> , ACTA2, <u><b>ACTC1</b></u> , <b>ACTN2</b> , ACVRL1, ADAMTSL4, <b>ADRB1</b> , <b>ADRB2</b> , ADRB3, AGL, AKAP9, <b>ALMS1</b> , ANK2, ANK3, <b>ANKRD1</b> , APOB, ASPH, <u><b>BAG3</b></u> , BMPR1B, BMPR2, <b>BRAF</b> , CACNA1B, CACNA1C, CACNA1D, CACNA2D1, CACNB2, CALM1, CALM2, <b>CALR3</b> , CAMK2D, CAPN3, <b>CASQ2</b> , CAV1, <b>CAV3</b> , CBL, CBS, CFTR, CHST14, <b>CLIC2</b> , CNBP, COL10A1, COL1A1, COL1A2, COL3A1, COL4A1, COL4A3, COL4A4, COL4A5, COL5A1, COL5A2, <u><b>CRYAB</b></u> , <b>CSRP3</b> , <b>CTF1</b> , CTNNA3, <b>CXADR</b> , <u><b>DES</b></u> , DMD, <b>DMPK</b> , <b>DOLK</b> , DPP6, <b>DSC2</b> , <b>DSG2</b> , <b>DSP</b> , <b>DTNA</b> , ELN, <b>EMD</b> , ENG, ERF, EYA1, <b>EYA4</b> , FBN1, FBN2, <u><b>FHL1</b></u> , <b>FHL2</b> , <b>FHOD3</b> , FKBP1A, FKBP1B, <b>FKRP</b> , <b>FKTN</b> , FLNA, <b>FLNC</b> , FXN, <b>GAA</b> , GATA4, GJA1, GJA5, <u><b>GLA</b></u> , GPD1L, HCN1, HCN4, HFE, HRAS, JAG1, JPH2, <b>JUP</b> , KCNA5, KCND3, KCNE1, KCNE1L, KCNE2, KCNE3, KCNE4, KCNH2, KCNJ11, KCNJ12, <b>KCNJ2</b> , KCNJ3, KCNJ5, KCNJ8, <b>KCNQ1</b> , KCNQ2, KLF10, KRAS, <b>LAMA2</b> , <b>LAMA4</b> , <u><b>LAMP2</b></u> , <b>LDB3</b> , LDLR, <u><b>LMNA</b></u> , LRP6, MAP2K1, MAP2K2, MEF2A, <b>MIB1</b> , <b>MURC</b> , <b>MYBPC3</b> , MYH11, <b>MYH6</b> , <u><b>MYH7</b></u> , <b>MYL2</b> , <u><b>MYL3</b></u> , MYLK, MYLK2, <b>MYOT</b> , <b>MYOZ2</b> , <u><b>MYPN</b></u> , NBR1, <b>NEBL</b> , <b>NEXN</b> , <b>NKX2-5</b> , NOS1AP, NOTCH1, NPPA, NRAS, OBSL1, PCSK9, <b>PDLIM3</b> , PITX2, <b>PKP2</b> , PKP4, <b>PLEC</b> , <b>PLN</b> , PLOD1, PNN, PRKAG2, <b>PSEN1</b> , <b>PSEN2</b> , PTPN11, RAF1, RANGRF, <b>RBM20</b> , RBX1, <b>RYR2</b> , SCN1B, SCN2B, SCN3B, SCN4B, <b>SCN5A</b> , SCNN1B, SCNN1G, SFTPC, SGCA, SGCB, <b>SGCD</b> , SHOC2, SKI, SLC25A4, SLC2A10, SLC39A13, SMAD1, SMAD3, SMAD4, SMAD9, SNTA1, SOS1, SPRED1, SQSTM1, SRF, SRY, <b>TAZ</b> , <b>TBX20</b> , TBX5, <b>TCAP</b> , TERC, TERT, TGFB3, TGFB1, TGFB2, <b>TGFB3</b> , TKT, <b>TMEM43</b> , <b>TMPO</b> , <u><b>TNNC1</b></u> , <u><b>TNNI3</b></u> , <u><b>TNNT2</b></u> , TNXB, <u><b>TPM1</b></u> , TRDN, TRIM55, TRIM63, TRPM4, <u><b>TTN</b></u> , TTR, <b>VCL</b> .
---

Los genes en negrita han sido previamente relacionados con miocardiopatías (MCH, MCD y/o MCR) y los subrayados se han relacionado específicamente con la MCR <sup>(7)</sup>.

#### 4.3.2. Interpretación de los resultados.

Las variantes genéticas encontradas se clasificaron inicialmente como mutaciones patógenas (MP) o variantes de significado incierto (VSI). Se consideraron MP si:

- Se habían descrito como MP causantes de miocardiopatías hereditarias (MCR, MCH y/o MCD) en la literatura o en bases de datos internacionales como ClinVar

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) y *The human gene mutation data base* (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>)

- Variantes de secuencia nuevas o *noveles* (no descritas anteriormente) y no presentes en controles en un gen asociado a miocardiopatía que producen truncamiento prematuro, desplazamiento del marco de lectura (*frameshift*) o ensamblaje anormal de la proteína (*splicing* alterado).

Se consideraron VSI aquellas que:

- Producen un cambio de un único nucleótido que provoca cambio de aminoácido (*missense*), no descritas previamente y no presentes en controles.

El resto de variantes encontradas en genes no relacionados con miocardiopatías no se incluyeron en el estudio aunque se reportan (tabla 16).

Las bases de datos utilizadas para determinar la presencia de las variantes en controles fueron: dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>) y NHLBI GO *Exome Sequencing Project database* (<http://evs.gs.washington.edu/SVE/>). El grado de conservación de los residuos de aminoácidos afectados por las variantes genéticas encontradas se determinó utilizando *AlaMut* (versión 2.4.5; *Biosoftware* interactivo, Rouen, Francia) por alineamiento múltiple de ortólogos en diversas especies. Los ortólogos alineados no presentes en *AlaMut* se tomaron de *Ensembl Compara database*. El grado de conservación de los aminoácidos se calificó de muy alta, alta, media o baja como se ha reportado previamente <sup>(108)</sup>.

Las VSI fueron reclasificadas acorde a los resultados del estudio familiar. Si cosegregaban con la enfermedad en la evaluación familiar o se trataba un caso esporádico con una mutación *de novo* se consideraron patogénicas. Por el contrario, si la VSI no cosegregaba con la enfermedad familiar se consideró no patógena. Finalmente las VSI en las que el estudio familiar no fue concluyente o no se realizó, permanecieron como VSI.

## **4.4. Evaluación familiar**

### **4.4.1. Árboles familiares.**

Los árboles familiares se elaboraron a partir de los antecedentes familiares recogidos en las historias clínicas y con la información proporcionada por los participantes mediante entrevista clínica y/o a través de un cuestionario. Se construyó un árbol familiar de al menos tres generaciones en todas las familias (salvo en #16 y #28) de acuerdo con las recomendaciones existentes <sup>(109)</sup>. Los árboles familiares se pueden consultar en el apéndice 1.

### **4.4.2. Estudio clínico y genético familiares.**

A todos los familiares de primer grado de los pacientes se les ofreció la participación en el estudio tras realizar consejo genético. La evaluación familiar consistió en un estudio clínico y genético en los casos en los que se había encontrado alguna variante genética candidata. La evaluación clínica incluyó el examen físico, electrocardiograma y un ecocardiograma. Puntualmente se realizó resonancia magnética en los que casos en los que el ecocardiograma ofrecía dudas. Las muestras para el estudio genético fueron de sangre o de saliva. El análisis de las muestras de los familiares se realizó mediante técnica de Sanger. Todos los participantes firmaron un consentimiento informado.

Se consideró MCR familiar si <sup>(1)</sup>:

- Se identificaba la mutación patogénica responsable de la enfermedad.
- Existía un miembro afectado en la familia con una miocardiopatía (MCR, MCH y/o MCD) además del probando incluso en las familias en las que no se hubiera identificado la mutación causante de la enfermedad.

## 4.5. Análisis estadístico

Las variables continuas se expresan como media  $\pm$  desviación estándar, salvo que la distribución no sea normal, en cuyo caso se expresan como mediana (rango intercuartílico). Las variables discretas se expresan como porcentajes.

Todos los datos fueron analizados utilizando el programa informático específico *IBM SPSS Statistics* versión 20.0 (IBM Corporation, Armonk, New York, USA).

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Características clínicas

Se estudiaron 32 pacientes no emparentados con diagnóstico de MCR evaluados en un programa de TXC. Catorce pacientes eran varones (44%). Todos los pacientes eran españoles de raza caucásica excepto una paciente cubana de origen afrocaribeño (#31). La procedencia geográfica de los casos españoles se muestra en la figura 16. La edad media de debut de MCR había sido  $34 \pm 16$  años (rango de 5 a 60), encontrándose en clase funcional de la NYHA  $\geq$ II el 88% (NYHA II: 12, 38%; III: 14, 44%; IV: 2, 6%) en el momento de diagnóstico. Tenían historia de FA 29 pacientes (91%) y 8 (25%) habían sufrido alguna complicación cardioembólica. Diez pacientes (31%) mostraron algún grado de BAV, precisando implante de marcapasos 9 de ellos (28%). Se habían implantado DAI en 5 casos (16%), uno tras una MS recuperada. Tenían datos de miopatía 7 pacientes (22%). En relación con los antecedentes familiares, en 11 casos (34%) había otros familiares afectados con miocardiopatía (MCR, MCH o MCD) y en 2 (6%) historia de MS en un familiar de primer grado.

La edad media en la evaluación inicial para TXC fue  $41 \pm 14$  años (rango de 10 a 63) con un único caso pediátrico (#23). La clase funcional fue NYHA III en 22 casos (68%) y NYHA IV en 10 (31%). 27 pacientes fueron finalmente trasplantados (84%). El valor de NT-proBNP sólo estaba disponible en 14 casos, con una mediana de 1692 pg/dL (RIC: 733 – 3077).

Aunque todos los pacientes incluidos en el presente estudio tenían un diámetro telediastólico ventricular izquierdo (DTDVI) inferior al 117% de lo previsto <sup>(107)</sup> (y sólo 4 tenían  $\text{DTDVI} > 112\%$ ), 8 de nuestros pacientes mostraron deterioro significativo de la función sistólica ( $\text{FEVI} < 45\%$ ) en la primera evaluación preTXC y 13 (41%) disfunción ventricular derecha. El deterioro de la FEVI es común en la MCR sobretudo en

estadios finales y existen series de pacientes con MCR en las que se describen disfunción ventricular severa previa al TXC <sup>(110)</sup>. Se revisó la historia clínica previa a la evaluación preTXC de aquellos pacientes con disfunción ventricular izquierda significativa para comprobar el diagnóstico de MCR. Seis individuos tenían FEVI normal o casi normal cuando se hizo el diagnóstico de MCR en sus centros de referencia y los dos casos restantes (#18 y # 28) aunque no se pudo comprobar este dato, tenían historia clínica, datos clínicos y/o antecedentes familiares de MCR. En el caso #18 se documentó una mutación patogénica ya relacionado con MCR y un curso clínico concordante con desminopatía (historia de miopatía, BAV a edad precoz y posterior desarrollo de ICC). En el caso #28, la madre de la paciente también tenía diagnóstico clínico de MCR, aunque no se pudo realizar test genético.

En cuanto a la terapia farmacológica para la ICC en el momento de la evaluación para TXC, todos los pacientes estaban tomando algún diurético de asa (100%), 24 además tomaban antialdosterónicos (75%), 11 (34%) IECA/ARA II y 12 betabloqueantes (38%). Para el manejo de la FA, 10 estaban en tratamiento con digoxina (31%) y 24 estaban anticoagulados (75%).

Un resumen de los principales hallazgos de las pruebas de la evaluación preTXC se muestra en la tabla 10. Las características detalladas de cada paciente se resumen en la tabla 11. La mediana de espera en lista para TXC fue de 93 días (RIC: 27 - 201). Dentro de los pacientes no trasplantados una paciente falleció con una asistencia de ventrículo derecho antes de llegar al TXC (#28), otra fue finalmente sacada de lista (#3) por hipertensión pulmonar grave e insuficiencia renal crónica (#3), dos permanecen en espera de TXC al cierre de este estudio (#31 y #32) y una sigue en evaluación para TXC (#4).



**Tabla 10. Resumen de los hallazgos de la evaluación inicial**

	Frecuencia (%) o media±DS (rango) o mediana (RIC)
<b>Características demográficas</b>	
Edad, años	41±14 (10 - 63)
<b>ECG</b>	
Fibrilación auricular, n (%)	23 (72)
Ritmo de marcapasos, n (%)	9 (28)
PR, ms	182±29 (144 - 240)
QRS, ms	113±28 (74 - 160)
<b>Ecocardiograma</b>	
Diámetro aurícula izquierda en PEL, mm	52±11 (30 - 77)
Máximo grosor VI, mm	11±2 (7 - 14)
DTDVI, mm; DTDVI*, %	46±6 (32 - 55); 100±11 (75 - 116)
FEVI, %	52±12 (30 - 80)
TDM, ms	115±23 (70-170)
Disfunción sistólica ventrículo derecho, n (%)	13 (41)
<b>Pruebas de esfuerzo</b>	
TM6M, m	336±85 (132 - 440)
Consumo de Oxígeno pico, L/min/m <sup>2</sup> , n (%)	14,1±4,4 (8 - 25)
<b>Cateterismo cardíaco</b>	
Curva de presión en “raíz cuadrada”, n (%)	10 (31)
PAD, mmHg	16±7 (8 - 33)
PCP, mmHG	26±7 (15 - 47)
PAPS, mmHG	53±21 (20 - 104)
Índice cardíaco, ml/min/m <sup>2</sup>	2,2±0,5 (1,4 - 3,4)
RVP, UW	2,4±1,2 (0,3 - 5)

\*Calculado según la fórmula de Henry <sup>(107)</sup>. DTDVI: diámetro telediastólico ventricular izquierdo; DS: desviación estándar; FEVI: fracción de eyección ventricular izquierda; PAD: presión aurícula derecha (diastólica); PCP: presión de enclavamiento pulmonar; PAPS: presión arterial pulmonar sistólica; PEL: paraesternal eje largo; RVP: resistencia vascular pulmonar; TDM: tiempo de desaceleración de la onda E mitral; TM6M: test de la marcha de los 6 minutos; UW: unidades Wood.

**Tabla 11. Características clínicas, familiares y genéticas de la cohorte**

ID	Edad ECI /Sexo	Resultado genético	Historia familiar	Historia clínica previa al TXC	ECG	Ecocardiografía			Hemodinámica
						Función diastólica	Ventrículo izquierdo	Ventrículo derecho	
#1	52 años/M	MYH7 - c.2156G>A (MP)	Hermana e hija con MCH y fisiología restrictiva	EP (38 años) NYHA III Días en lista: 2 Edad TXC: 52 años	FA, alteraciones difusas de la repolarización. QRS 102 ms	AI: 65 mm E/A: 2,9 E/e': 9,9 TDM: 120 ms	DTDVI: 48 mm (102%*) FEVI: 68% MGVI: 13 mm RMC con realce	TAPSE: 18 mm Derrame pericárdico leve. VCI dilatada sin colapso	PAD: 16, PDVD: 15 PCP: 23 PAP: 45/28(34) IC: 1,8, RVP: 2,4 HTP leve pasiva
#2	49 años/F	MYL2 - c.430C>G (NP)	Hermanos e hijos con MCR. Madre portadora de MCP falleció por ICC	BAV-MCP (41 años) ICC derecha. NYHA IV Días en lista: 73 Edad TXC: 49 años	FA (MCP VVI)	AI: 40 mm AD: 41 mm	DTDVI: 41 mm (93%*) FEVI: 62% MGVI: 9 mm	VD dilatado con función sistólica normal. Moderado derrame pericárdico	PAD: 14, PDVD: 14 PCP: 14, PDVI: 15 PAP: 30/15(20) IC: 2,1, RVP: 1,8 Dip and plateau
#3	59 años/F	TPM1 - c.574G>A (MP)	Hermanas y sobrino con MCH-MCR	Ablación AV-MCP (59 años). IRC ICC derecha. NYHA III-IV No incluido en lista TXC (61 años)	FA (MCP VVI)	AI: 47 mm E: 0,7 m/s E/e': 17 TDM: 170 ms	DTDVI: 41 mm (94%*) FEVI: 64% MGVI: 13 mm	TAPSE: 23 mm	PAD: 32, PDVD: 27 PCP: 36 PAP: 65/35(45) IC: 2,3, RVP: 1,2 HTP reactiva
#4	61 años/F	FLNC - c.6589C>T (P)	Dos hijos con MC (MCH y MCH-MCR)	NYHA III. FA paroxística	RS, alteraciones difusas de la repolarización. QRS 78 ms	LA: 44 mm (60 mL/m2) E: 0,72 m/s E/A: 3,2; E/e': 12,4 DMT: 130 ms	LVDD: 42 mm (95%*) LVEF: 60% MWT: 10 mm RMC sin realce	TAPSE: 23 mm AD dilatado PAPS con ejercicio de 60 mmHg	No realizada
#5	32 años/F	LMNA - c.265C>T (MP)	Ninguno	ICC derecha. NYHA II-III Días en lista: 28 Edad TXC: 32 años	FA, BRI (QRS 133 ms)	AI: 45 mm E: 0,7 m/s E/e': 13 TDM: 120 ms	DTDVI: 47 mm (100%*) FEVI: 47% MGVI: 10 mm RMC sin realce	TAPSE: 17 mm VD dilatado con signos de HTP. Moderada TR	PAD: 28, PDVD: 29 PCP: 35; PAP: 65/35(45); IC: 2,1 RVP: 2,8; No dip and plateau. HTP pasiva

#6	35 años/M	DES - c.640-10delCinsACGTGGATGC AG (MP)	Ninguno	BAV-MCP (25 años), EP (28 años) ICC derecha, NYHA II-III Días en lista: 179 Edad TXC: 36 años	FA (MCP VVI)	AI: 49 mm E: 0,8 m/s	DTDVI: 40 mm (85%*) FEVI: 52% MGVI: 10 mm	TAPSE:18 mm IT moderada-grave con signos de HTP. Derrame pericárdico leve	PAD: 8, PDVD: 8 PCP: 15 PAP: 20/8(12) IC: 1,9, RVP: 1,4 Dip and plateau
#7	59 años/F	TNNC1 - c.262G>T (VSI)	Hermano con MC hipertensiva	ICC derecha. NYHA IV Días en lista: 144 Edad TXC: 60 años	FA (Alteración de la repolarización inferolateral) QRS 100 ms	AI: 50 mm E: 0,6 m/s E/e': 10 TDM: 120 ms	DTDVI: 51 mm (107%*) FEVI: 45% MGVI: 10 mm	Disfunción VD moderada. Moderado derrame pericárdico	PAD: 13; PDVD: 13 PCP: 31 PAP: 59/23(39) IC: 2,3, RVP: 1,5 Dip and plateau. HTP pasiva
#8	39 años/F	FLNC - c.4927+1delG (MP)	Ninguno	ICC derecha. NYHA IV Días en lista: 93 Edad TXC: 39 años	RS. BAV primer grado y BRI. QRS 140 ms	AI: 42 mm E: 0,8 m/s TDM: 100 ms	DTDVI: 32 mm (76%*) FEVI: 66% MGVI: 14 mm	VD normal Derrame pleural y ascitis. VCI dilatada	PAD: 21, PDVD: 13 PCP: 25 PAP: 57/27(38) IC: 2,6, RVP: 3,3 Dip and plateau
#9	45 años/M	LMNA - c.1116G>C (VSI) BAG3 - c.1702A>C (VSI) LDB3 - c.913G>A (VSI)	Padre con la misma enfermedad (miopatía y MC) falleció por ICC a los 33 años	Miopatía (infancia) BAV-MCP (45 años) ICC derecha, NYHA IV Días en lista: 10 Edad TXC: 45 años	FA, BAV completo	Crecimiento biauricular	DTDVI: 50 mm (111%*) FEVI: 47% MGVI: 13 mm	Disfunción VD grave con IT severa. Derrame pericárdico leve. VCI dilatada sin colapso	PDVD: 4, PCP: 22 PAPM: 30; IC: 1,9, RVP: 2,6
#10	48 años/M	MYBPC3 - c.1457_1457+1delGGins C (MP)	Madre y tío materno con MC no especificada e ictus	Ictus (41 años), TV inducida-DAI (46 años) ICC derecha, NYHA IV Días en lista: 10 (urgente) Edad TXC: 48 años	FA, BRD. EV frecuentes. QRS 160 ms	AI: 77 mm Patrón restrictivo transmitral. Crecimiento biauricular	DTDVI: 56 mm (114%*) FEVI: 38% MGVI: 13 mm	Disfunción VD. Derrame pleural y ascitis. Moderada HTP	PAD: 30, PDVD: 30 PCP: 47 PAPM: 60 IC: 2,5, RVP: 2,7

#11	46 años/M	MYBPC3 - c.3709A>C (VSI) TTN - c.36980G>A (VSI), c.54869G>A (VSI)	Ninguno	Ictus. TVNS-DAI (40años). NYHA IV Días en lista: 37 Edad TXC: 46 años	FA, alteraciones difusas de la repolarización. QRS 110 ms	AI: 64 mm E/e': 6,4 TDM: 110 ms	DTDVI: 49 mm (106%*) FEVI: 47% MGVI: 10 mm	TAPSE: 21 mm	PAD: 22, PCP: 28 PAP: 55/30(38) IC: 3,3, RVP: 1,5
#12	45 años/M	FLNC - c.6889G>A (MP)	Hijos con MCH	NYHA III Días en lista: 176 Edad TXC: 46 años	FA, alteraciones difusas de la repolarización. QRS 95 ms	AI: 39 mm E: 0,8 m/s TDM: 113 ms Crecimiento biauricular	DTDVI: 45 mm (98%*) FEVI: 68% MGVI: 11 mm	VD dilatado con disfunción sistólica	PAD: 23, PCP: 33 PAP: 60/35(43) IC: 1,6, RVP: 3,5
#13	30 años/M	FLNC - c.7672G>A (VSI)	Ninguno	Ablación AV - MCP (30 años) ICC derecha. NYHA III Días en lista: 68 Edad TXC: 32 años	FA (MCP VVI)	AI: 48 mm E: 0,78 m/s TDM: 90 ms	DTDVI: 48 mm (100%*) FEVI: 45% MGVI: 12 mm	VD levemente dilatado con función sistólica normal. No derrame pericárdico	PAD: 11, PCP: 20 PAP: 35/15(24) IC: 3,4, RVP<1
#14	63 años/F	MYH7 - c.2302G>A (MP)	Hijos con MCH	BAV-MCP (54 años) NYHA III Días en lista: 27 Edad TXC: 63 años	FA. BRI (QRS 140 ms)	AI: 56 mm E: 0,78 m/s TDM: 90 ms	DTDVI: 53 mm (111%*) FEVI: 69% MGVI: 11 mm	TAPSE>18mm	PAD: 22, PCP: 25 PAP: 63/35(44) IC: 1,8, RVP: 2,4
#15	36 años/F	FLNC - c.8131G>T (VSI) FHOD3 - c.4178T>G (VSI)	Padre con MC hipertensiva	NYHA III Días en lista: 230 Edad TXC: 37 años	RS. QRS 80 ms FA paroxística	AI: 51 mm	DTDVI: 42 mm (93%*) FEVI: 60% MGVI: 7 mm	VD normal	PAD: 18, PCP: 32 PAP: 77/19(50) IC: 2,7, RVP: 4,1
#16	30 años/F	TNNI3 - c.575G>A (MP)	No	Ictus (21 años). BAV-MCP (26 años). NYHA III Días en lista: 38 Edad TXC: 30 años	FA (MCP VVI)	AI: 58 mm E: 0,42 m/s	DTDVI: 50 mm (110%*) FEVI: 55% MGVI: 10 mm	VD normal	PAD: 11, PCP: 22 PAP: 27/20(23) IC: 2,7, RVP<1
#17	45 años/F	MYH7 - c.2087A>G (MP) NEXN - c.979A>G (VSI)	No	NYHA IV Días en lista: 8 Edad TXC: 45 años (urgente)	FA. BRD (QRS 140 ms)	AI: 47 mm	DTDVI: 50 mm (116%*) FEVI: 45% MGVI: 7 mm	-	PAD: 12, PCP: 19 PAP: 37/23(27) IC: 1,4 RVP: 3,8

#18	19 años/M	DES - c.1360C>T (MP) SCN5A - c.1333C>G (VSI)	Abuelo paterno con MCP	DM tipo I. Miopatía. BAV-MCP (15 años) ICC derecha. NYHA III Días en lista: 264 Edad TXC: 20 años	RS (MCP VDD)	Crecimiento biauricular. Patrón restrictivo transmitral	Disfunción VI MGVI: 13 mm	VD normal	PAD: 11, PDVD: 20 PCP: 35 PAP: 80/43(55) IC: 2,9, RVP: 4,7 Dip and plateau HTP reactiva
#19	47 años/M	MYBPC3 - c.2149-1G>A (MP)	Hermano con MCH. Hijo con MCH y MS	DM tipo II NYHA III Días en lista: 290 Edad TXC: 48 años	RS, Alteración de la repolarización lateral. QRS 100 ms	AI: 60 mm E: 0,9 m/s E/A: 5 TDM: 138 ms	DTDVI: 51 mm (105%*) FEVI: 30% MGVI: 11 mm RMC con realce	Disfunción VD	PAD: 11, PCP: 20 PAP: 44/18(28) IC: 1,9, RVP: 2,1
#20	63 años/M	MYBPC3 - c.1457+2T>G (VSI)	No	Likely Miopatía. TV inducida-DAI (63 años) NYHA III-IV Días en lista: 461 Edad TXC: 64 años	FA, alteraciones difusas de la repolarización QRS 80 ms	AI: 61 mm E: 1,3 m/s TDM: 95 ms	DTDVI: 53 mm (115%*) FEVI: 41% MGVI: 14 mm	Disfunción VD	PAD: 10, PCP: 22 PAP: 44/32(36) IC: 2, RVP: 3,9
#21	31 años/F	DES - c.1360C>T (MP)	No	Ictus (18 años). BAV-MCP (19 años). Miopatía ICC derecha. NYHA III-IV Días en lista: 19 Edad TXC: 31 años	TRC	AI: 52 mm E: 0,7 m/s E/e': 16 TDM: 110 ms	DTDVI: 47 mm (106%*) FEVI: 39% MGVI: 13 mm RMC sin realce	TAPSE: 7 mm VD dilatado con signos de HTP. IT grave. Derrame pericárdico y pleural	PAD: 18, PDVD: 17 PCP: 25 PAP: 41/19(26); IC: 1,9, RVP: 3 Dip and plateau
#22	58 años/F	MYH7 - c.2302G>A (MP) MYL3 - c.152T>C (VSI)	Madre, abuela maternal, tío materno y dos primos con historia de MS	Ablación AV - MCP (51 años) ICC derecha. NYHA III-IV Días en lista: 49 Edad TXC: 59 años (urgente)	Fluter auricular (MCP VVI)	AI: 70 mm E: 1,5 m/s E/e': 23 TDM: 134 ms	DTDVI: 30 mm (75%*) FEVI: 50% MGVI: 14 mm	TAPSE: 19 mm VD dilatado con función normal. Derrame pericárdico grave	PAD: 10, PDVD: 10 PCP: 23 PAP: 39/20(26) IC: 2,4, RVP<1 No dip and plateau

#23	10 años/F	TNN72 - c.820_821delGT (MP) PKP2 - c.2084G>A (VSI)	No	NYHA III Días en lista: 201 Edad TXC: 11 años	RS, BRD (QRS 160 ms). Alteración de la repolarización lateral	AI: 43 mm TDM: 84 ms	DTDVI: 44 mm (109%*) FEVI: 53% MGVI: 12 mm	VD normal	PAD: 10, PDVD:10 PCP: 18, PDVI: 13 PAP: 40/20(28) IC: 2,6, RVP: 3,5
#24	36 años/F	TCAP - c.187C>T (MP) MYH6 - c.1042G>A (VSI) FLNC - c.4636G>A (NP) TTN - c.4261A>G (VSI), c.22870A>C (VSI), c.29747C>T (NP)	Madre con MCH, disfunción diastólica grado II y EV frecuentes	NYHA III Días en lista: 224 Edad TXC: 36 años	FA, alteraciones difusas de la repolarización. QRS 100 ms	AI: 48 mm	DTDVI: 37 mm (81%*) FEVI: 66% MGVI: 12 mm	-	PAD: 19, PCP: 27 PAP: 49/24(33) IC: 2,2, RVP: 1,6
#25	32 años/F	FLNC - c.7630G>A (VSI) FHOD3 - c.4240C>T (VSI)	Madre con ictus y diagnóstico de estenosis mitral, falleció por ICC. Tía materna con MCR	Ictus (24años) ICC derecha. NYHA IV Días en lista: 246 Edad TXC: 32 años	RS, Alteración de la repolarización lateral. QRS 80 ms	Crecimiento biauricular E/A: 2,3 E/e': 13 TDM<100 ms	DTDVI: 43 mm (100%*) FEVI: 54% MGVI<13 mm	VD normal. Grave HTP	PAD: 11, PCP: 25 PAP: 74/29(46) IC: 2,9, RVP: 5 No dip and plateau
#26	39 años/M	LMNA - c.1046_1047delGGinsTT (MP)	No	MS-DAI (40 años) ICC derecha. NYHA III Días en lista: 157 Edad TXC: 40 años	FA. BRD (QRS 150 ms). BAV primer grado	AI área: 30 cm2 E/A: 5,5 TDM: 118 ms	DTDVI: 50 mm (106%*) FEVI: 40% MGVI<13 mm RMC con realce	TAPSE: 14 mm VD dilatado. Signos de HTP. VCI dilatada con colapso disminuido	PAD: 14, PCP: 17 PAP: 30/16 (22) IC: 2,2, RVP: 1 Dip and plateau
#27	25 años/F	LAMP2 - c.520C>T (MP) SGCD - c.494G>A (VSI)	No	WPW (21 años) NYHA IV Días en lista: 22 Edad TXC: 25 años	FA. Alteración de la repolarización lateral. QRS 100 ms	AI: 47 mm E: 0,72 m/s TDM: 70 ms	DTDVI: 52 mm (114%*) FEVI: 35% MGVI: 13 mm RMC con realce	TAPSE: 11 mm VD dilatado. Signos de HTP. VCI dilatada con colapso disminuido	PAD: 11, PDVD: 14 PCP: 23 PAP: 41/21(30) IC: 2, RVP: 2,1
#28	17 años/F	MYBPC3 - c.3742G>A (VSI) ACTN2 - c.641T>C (VSI)	Madre con MCR	NYHA IV. VAC. HTP grave no reactiva. No TXC (17 años)	FA. QRS 90 ms	Crecimiento biauricular con patrón restrictivo transmitral	DTDVI: 40 mm (89%*) FEVI: 36% MGVI<13 mm	TAPSE: 10 mm VD dilatado con signos de HTP	PAD: 15, PCP: 31 PAP: 85/50(64) IC: 1,4, RVP: 14

#29	50 años/M	DES - c.1236G>C (VSI) FLNC - c.3553G>A (VSI)	No	Ictus NYHA III Días en lista: 230 Edad TXC: 50 años	FA. Alteración de la repolarización lateral. QRS 100 ms	Al: 56 mm E: 1 m/s E/e': 8,3 TDM: 129 ms	DTDVI: 50 mm (106%*) FEVI: 50% MGVI: 11 mm	TAPSE: 18 mm	PAD: 15, PCP: 23 PAP: 48/30(36) IC: 2,3, RVP: 2,6
#30	26 años/M	TTN - c.22768C>T (VSI)	Abuelo MS (50años). Padre con MCP y MC no especificada (50 años)	ICC derecha (13 años). NYHA III Días en lista: 61 Edad TXC: 26 años	RS, BRD (QRS 140 ms). Alteración de la repolarización lateral	Crecimiento biauricular con patrón restrictivo transmitral	VI pequeño, función sistólica normal	VD dilatado	PAD: 8, PCP: 30 PAP: 104/50 (72) RVP: 2,1
#31	36 años/F	-	Hermana con MCD y TXC (18años)	Ablación AV-MCP (35años) ICC derecha. NYHA III. En lista TXC (36 años)	FA (MCP VVI)	Al: 55 mm E: 0,8 m/s E/e': 8,1 TDM: 90 ms	DTDVI: 46 mm (106%*) FEVI: 49% MGVI: 7 mm RMC sin realce	TAPSE: 10 mm Signos de HTP	PAD: 17; PDVD: 16 PCP: 16 PAP: 28/17(20) IC: 2,6, RVP: 1,5 Dip and plateau
#32	46 años/M	TTN - c.37019C>T (VSI) TTN - c.38000C>T (VSI)	No	DM tipo II ICC derecha. NYHA III-IV. En lista TXC (47 años)	FA, alteraciones difusas de la repolarización. QRS 89 ms	Al: 56 mm E: 1,1 m/s E/e': 14 TDM: 130 ms	DTDVI: 42 mm (87%*) FEVI: 80% MGVI: 13 mm RMC con realce	TAPSE: 21mm Signos de HTP. VD dilatado. Derrame pericárdico leve	PAD: 14, PDVD: 10 PCP: 31, PDVI: 16 PAP: 81/42(55) IC: 3,1, RVP: 3,1 Dip and plateau

\*Fórmula de Henry <sup>(107)</sup>; §Las presiones se expresan en mmHg, IC en in L/min/m2 y RVP en unidades Wood; PAP se refiere a Sistólica/Diastólica (Media).

AD: aurícula derecha; Al: aurícula izquierda; BAV: bloqueo auriculoventricular; BRD: bloqueo de rama derecha; BRI: bloqueo de rama izquierda; DTDVI: diámetro telediastólico del VI; ECI: evaluación clínica inicial; EP: embolismo periférico; EV: extrasístoles ventriculares; F: femenino; FA: fibrilación auricular; FEVI: fracción de eyección del VI; HTP: hipertensión pulmonar; IC: índice cardíaco; ICC: insuficiencia cardíaca; IRC: insuficiencia renal crónica; IT: insuficiencia tricuspídea; DAI: desfibrilador automático implantable; M: masculino; MC: miocardiopatía; MCD: miocardiopatía dilatada; MCP: marcapasos; MGVI: máximo grosor de pared del VI; MP: mutación patogénica; MS: muerte súbita cardíaca; NP: no patogénica; PAD: presión AD; PAP: presión en arteria pulmonar; PCP: presión de enclavamiento pulmonar; RMC: resonancia magnética cardíaca; RS: ritmo sinusal; RVP: resistencia vascular pulmonar; TDM: tiempo de desaceleración de la onda E mitral; TRC: resincronizador cardíaco; TV: taquicardia ventricular; TXC: trasplante cardíaco; VCI: vena cava inferior; VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo; VSI: variante de significado incierto.

## 5.2. Resultados genéticos

### 5.2.1. Resultados genéticos en los probandos

Inicialmente, se encontraron 15 MP en 17 sujetos (53%) ya que la misma mutación apareció en pacientes distintos por dos veces. Diez mutaciones se habían reportado previamente como patogénicas causante de miocardiopatías y 5 eran mutaciones noveles causantes de un truncamiento en la proteína (tabla 14). Siete sujetos además de la MP tenían también alguna VSI (tabla 15). Ningún individuo era portador de más de una MP. Los genes en los que inicialmente se encontraron estas MP fueron: *MYH7* (3 mutaciones), *MYBPC3* (2), *DES* (2), *ACTN2* (1), *LMNA* (1), *FLNC* (1), *FHOD3* (2), *TCAP* (1), *TNNI3* (1), *TNNT2* (1), *TPM1* (1) y *LAMP2* (1).

En catorce pacientes (44%) se encontraron únicamente VSI, un total de 21 en los siguientes genes (tabla 4): *FLNC* (5 variantes genéticas), *TTN* (4), *MYBPC3* (3), *LMNA* (2), *BAG3* (1), *DES* (1), *FHOD3* (1), *LDB3* (1), *MYL2* (1) y *TNNC1* (1).

En un único caso (3%) no se halló ninguna variante candidata en los genes relacionados con miocardiopatía, por lo que el resultado del estudio genético fue negativo (#31). Además, se identificaron variantes genéticas en otros genes relacionados con otros trastornos cardiovasculares (tabla 16).

### 5.2.2. Resultados genéticos tras la evaluación familiar

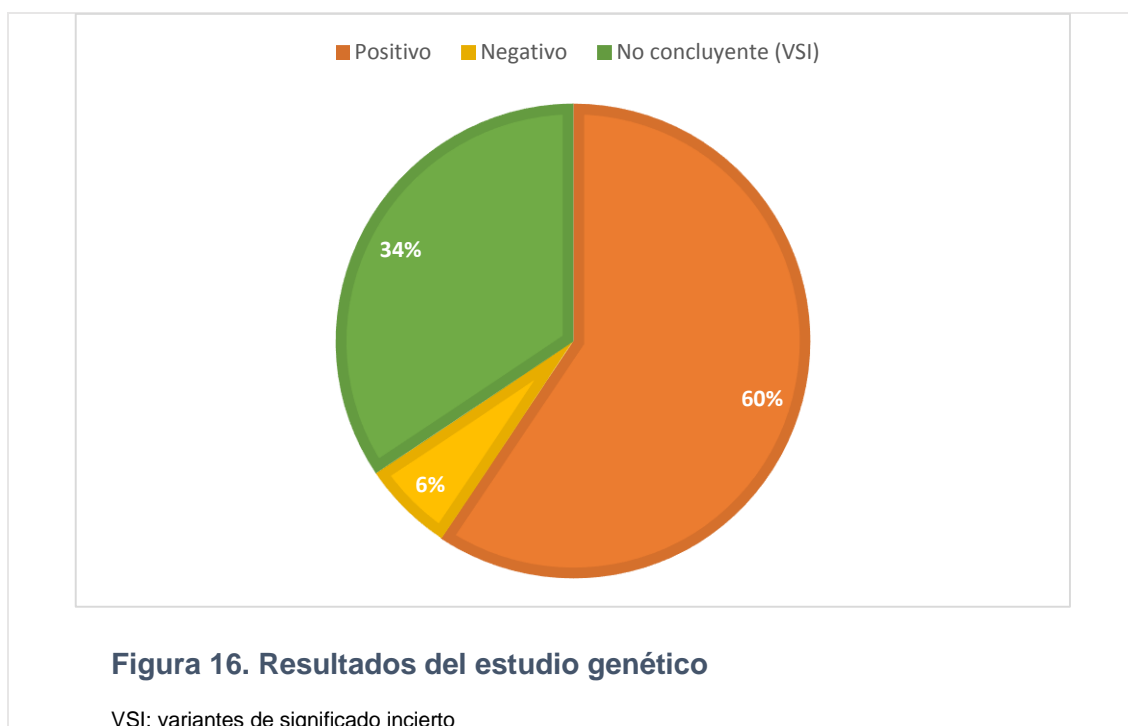
La evaluación familiar incluyó el estudio clínico de 94 familiares de 26 familias (81%) con estudio genético en 89 (95%). Se estudió al menos un familiar de 14 de las 17 familias con MP. La evaluación familiar confirmó la patogenicidad de la MP en 10 casos (6 por cosegregación y 4 por tratarse de mutaciones *de novo*) (apéndice 1) y se pudo reclasificar 2 VSI como no patogénicas. Además, una mutación truncante en *FHOD3* fue catalogada finalmente como VSI. En esta familia (#25) la historia de MCR venía de la rama materna mientras que esta mutación provenía del lado paterno, por lo



que no se pudo considerar la mutación responsable de la MCR familiar y por tratarse de un truncamiento se reclasificó como VSI al no poder asegurar que sea una variante no patogénica (apéndice 1).

Adicionalmente se estudió al menos un familiar de 11 de las 14 familias con sólo VSI lo que permitió la reclasificación de 4 VSI: tres como MP (dos por cosegregación y una por ser mutación *de novo*) y una variante como no patogénica. En siete casos la evaluación familiar resultó no concluyente, por lo que las variantes genéticas encontradas permanecieron como VSI.

Al final del estudio, se ha identificado la mutación causante de la MCR en 19 pacientes (60%) (tabla 14); 11 pacientes mostraron sólo VSI (34%) (tabla 15) y 2 (6%) no mostraron ninguna posible mutación causante de la enfermedad (figuras 16).

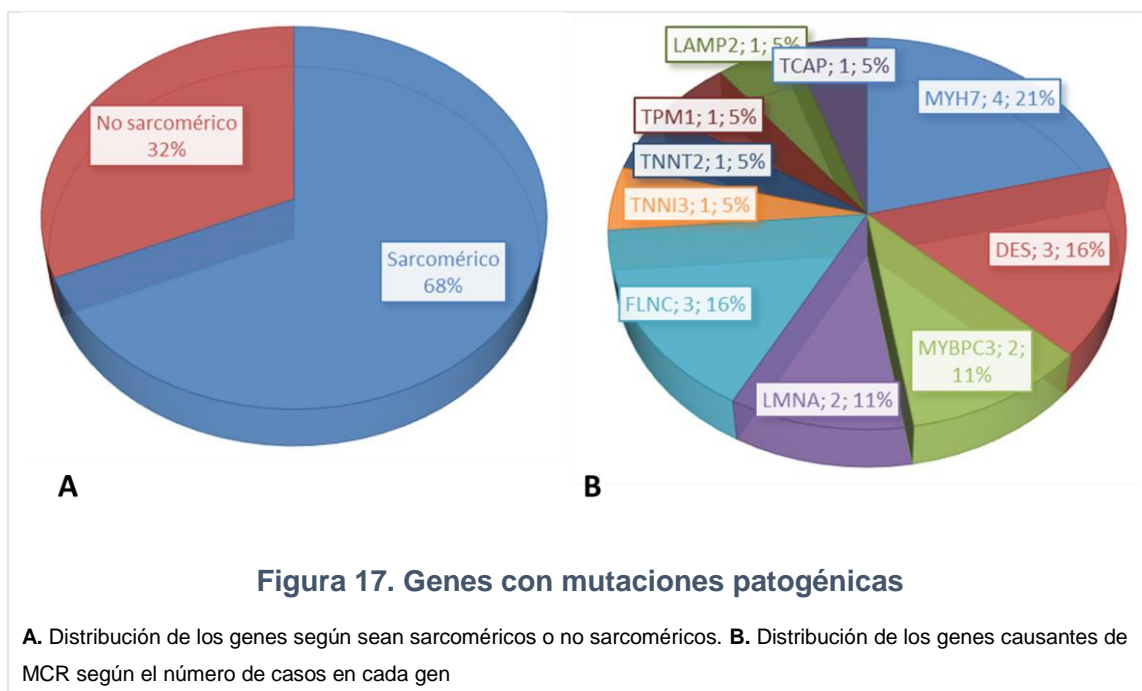


De las 19 familias en las que se había documentado la mutación causal, 12 casos tenían mutaciones patogénicas ya asociadas a miocardiopatías. En las 7 mutaciones restantes, en 5 se confirmó su causalidad mediante demostración de cosegregación en el estudio familiar. En otro caso el estudio familiar no llegó a ser concluyente: en la familia #23 el padre de la paciente era el único portador, se encontraba asintomático y

aunque tenía signos inespecíficos de miocardiopatía (SIV 12-13 mm, realce no isquémico en la MCR) no cumplía criterios diagnósticos de ningún fenotipo (apéndice 1). Sólo en un caso en el que se había identificado una mutación novel considerada patogénica por producir un truncamiento en *FLNC* los familiares rechazaron el estudio (#8).

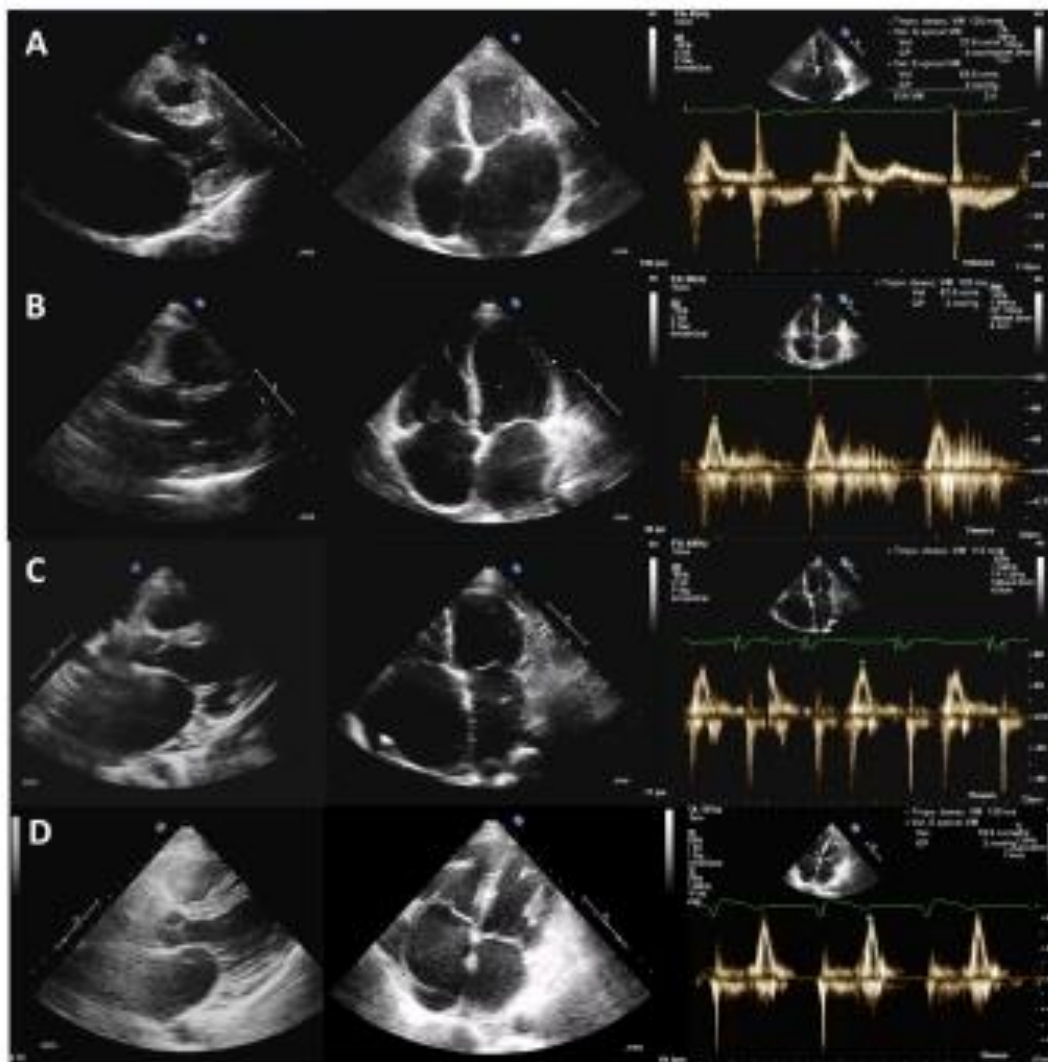
### 5.2.3. Genes causales de MCR.

Los genes con MP fueron *FLNC* (3 mutaciones), *MYH7* (3), *DES* (2), *MYBPC3* (2), *LMNA* (2), *TCAP* (1), *TNNI3* (1), *TNNT2* (1), *TPM1* (1), y *LAMP2* (1) (tabla 14). El 68% fueron genes sarcoméricos (figura 17).



Tres de las 17 MP encontradas (*DES* <sup>p.R454W</sup>, *MYH7* <sup>p.G768R</sup> y *TNNI3* <sup>p.R192H</sup>) habían sido descritas previamente como causantes de MCR <sup>(65,90,111)</sup>, mientras que otras se habían relacionado con MCH o MCD <sup>(112-117)</sup>. Hasta la fecha no se habían reportado mutaciones en los genes *FLNC*, *MYBPC3* y *TCAP* causantes de MCR y, que se sepa, sólo existe un artículo en el que se reporta un caso de MCR asociado a una mutación en el gen *LMNA* en el contexto de síndrome de Emery-Dreifuss <sup>(89)</sup>. En la figura 18, se

muestran los ecocardiogramas de MCR causadas por mutaciones en diferentes genes, como ejemplos de la heterogeneidad genética de la MCR.



**Figura 18. Heterogeneidad genética de la MCR**

Hallazgos ecocardiográficos en los planos paraesternal eje largo, cuatro cámaras y patrón transmitral en cuatro pacientes de nuestra cohorte. **A.** MCR debida a mutación en *MYH7*. **B.** MCR debida a mutación en *LMNA*. **C.** MCR debida a mutación en *DES*. **D.** MCR familiar con causa genética desconocida.

#### 5.2.4. Correlaciones genotipo-fenotipo

En relación con las características clínicas, 10 pacientes tenían trastornos de la conducción con algún grado de BAV y mutaciones en los siguientes genes: *DES* (3 sujetos), *LMNA* (2), *FLNC* (1), *MYBPC3* (1), *MYH7* (1), *TNNI3* (1), habiendo además un caso sin gen identificado (1). Se documentaron cifras elevadas de CPK asociado o no a síntomas de miopatía en 5 sujetos que tenían mutaciones en los genes *DES* (3 sujetos), *MYH7* (1) y *LMNA* (1).

No hubo ningún rasgo clínico que predijera la posibilidad de encontrar la mutación causal subyacente de la MCR (tabla 12). Se realizó un subanálisis incluyendo únicamente los 19 casos con MP. Los pacientes con MP en genes sarcoméricos tenían con más frecuencia antecedentes familiares de miocardiopatía (54% vs. 0%,  $p=0,044$ ), mientras que aquellos con MP en genes no sarcoméricos tenían más prevalencia de miopatía (8% vs. 67%,  $p=0,017$ ) y valores de FEVI inferiores ( $54\pm14$  vs.  $41\pm7$ ,  $p=0,041$ ) (tabla 13).

La paciente con una MP en el gen *LAMP2* tenía antecedentes de Wolf-Parkinson-White y arritmias supraventriculares, pero en ningún momento mostró otros síntomas extracardíacos como discapacidad intelectual, aumento de enzimas hepáticas, miopatía o retinosis pigmentosa, propios de la enfermedad de Danon <sup>(118)</sup>.

#### 5.2.5. MCR familiar

En 11 casos (34%) existía historia familiar de miocardiopatía (4 MCH-MCR, 3 MCR, 2 MCH, 1 MCD y otra no especificada). Tras la evaluación familiar y los estudios genéticos, 24 casos (75%) cumplieron criterios de MCR familiar o genéticamente determinada, habiéndose encontrado la mutación responsable de la enfermedad en 19 de ellos (79%). La evaluación de 76 familiares en los casos en los que la MCR se consideró hereditaria identificó 9 individuos con criterios de MCH, 7 con fenotipo mixto MCH-MCR y 3 con MCR. Además, se encontraron 5 portadores asintomáticos sin

signos de enfermedad y 2 portadores asintomáticos con alteraciones no diagnósticas en el ECG y/o el ecocardiograma (familias #12 y #23).

**Tabla 12. Características clínicas, electrocardiográficas, ecocardiográficas y hemodinámicas de los pacientes con y sin mutaciones patogénicas**

	Pacientes con MP (n=19)	Pacientes sin MP o sólo VSI (n=13)	P
<b>Características clínicas</b>			
Edad diagnóstica, años	34±17	35±15	0,785
Edad ECI, años	41±15	41±13	0,927
Sexo femenino, n (%)	12 (63)	6 (42)	0,473
Miopatía, n (%)	5 (26)	2 (15)	0,671
Cardioembolismo, n (%)	4 (21)	4 (31)	0,684
AF miocardiopatía, n (%)	6 (32)	5 (39)	0,721
AF MSC, n (%)	2 (11)	0 (0)	0,502
<b>Características ECG</b>			
FA, n (%)	16 (84)	13 (100)	0,253
BAV, n (%)	7 (37)	3 (21)	0,467
QRS, ms	122±29	102±25	0,088
<b>Características ecocardiográficas</b>			
AI, mm	51±12	55±10	0,351
Máximo grosor VI, mm	12±2	11±2	0,289
DTDVI, %*	100±13	101±9	0,791
FEVI, %	52±13	52±11	0,990
Disfunción VD, n (%)	8 (42)	5 (38)	0,620
<b>Características hemodinámicas</b>			
PAD, mmHg	18±8	14±4	0,116
PCP, mmHg	26±8	26±5	0,976
PAPS, mmHg	49±17	60±24	0,158
IC, ml/min/m <sup>2</sup>	2,1±0,4	2,4±0,6	0,157
RVP, UW	2,3±1,1	2,5±1,3	0,688

**Tabla 13. Características clínicas, electrocardiográficas, ecocardiográficas y hemodinámicas de los pacientes con mutaciones patogénicas en genes sarcoméricos y no sarcoméricos**

	Pacientes con MP en genes sarcoméricos (n=13)	Pacientes con MP en genes no sarcoméricos (n=6)	P
<b>Características clínicas</b>			
Edad diagnóstico, años	38±18	24±9	0,112
Sexo femenino, n (%)	9 (69)	3 (50)	0,617
Miopatía, n (%)	1 (8)	4 (67)	0,017
Cardioembolismo, n (%)	3 (21)	1 (17)	1,000
AF MC, n (%)	7 (54)	0 (0)	<b>0,044</b>
<b>Características ECG</b>			
FA, n (%)	9 (69)	4 (67)	1,000
BAV, n (%)	3 (23)	4 (67)	0,129
QRS, ms	121±3	128±25	0,728
<b>Características ecocardiográficas</b>			
AI, mm	53±12	45±9	0,173
Máx. grosor VI, mm	12±2	11±1	0,706
DTDVI, %*	99±14	102±11	0,648
FEVI, %	<b>57±13</b>	<b>41±7</b>	<b>0,013</b>
Disfunción VD, n (%)	3 (23)	5 (83)	0,050
<b>Características hemodinámicas</b>			
PAD, mmHg	19±9	15±7	0,320
PCP, mmHg	27±8	25±9	0,727
PAPS, mmHg	51±15	46±22	0,628
IC, ml/min/m <sup>2</sup>	2,1±0,4	2,2±0,4	0,812
RVP, UW	2,2±1,1	2,5±1,3	0,603

**Leyenda tablas 12 y 13.** \*Calculado según la fórmula de Henry <sup>(107)</sup>. AF: antecedentes familiares; BAV: bloqueo auriculoventricular; FA: fibrilación auricular; IC: índice cardíaco; DTDVI: diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo; MC: miocardiopatía; MP: mutación patogénica; PAD: presión en auricular derecha; PAPS: presión arterial pulmonar sistólica; PCP: presión de enclavamiento pulmonar; RVP: resistencia vascular pulmonar; UW: Unidades Wood; VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo.

**Tabla 14. Mutaciones patogénicas**

Gen	Mutación*	Producto	Caso	Descrita	Descrita en controles	Conservación	SIFT (score)	Polyphen-2 (score)	Mutation Taster (score)	Consecuencia	Cosegregación
<i>DES</i>	NM_001927.3:c.640-10delCinsACGTGGATGCAG	-	#6	No	No	.	.	.	.	<i>Splicing</i> alterado	Sí (mutación <i>de novo</i> )
<i>DES</i>	NM_001927.3:c.1360C>T	p.R454W	#18, #21	Sí	No	Medio	Deletérea (0,00)	Probablemente dañina (0,995)	Causa de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	Sí (mutación <i>de novo</i> #21)
<i>FLNC</i>	NM_001458.4:c.4927+1delG	-	#8	No	No	.	.	.	.	<i>Splicing</i> alterado	No estudiada
<i>FLNC</i>	NM_001458.4:c.6889G>A	p.V2297M	#12	No	No	Alto	Deletérea (0,00)	Probablemente dañina (0,995)	Causa de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	Sí
<i>FLNC</i>	NM_001458.4:c.6589C>T	p.R2197W	#4	No	No	Alto	Deletérea (0,00)	Posiblemente dañina (0,642)	Causa de enfermedad (0,999)	<i>Missense</i>	Sí
<i>LAMP2</i>	NM_002294.2:c.520C>T	p.Q174*	#27	Sí	No	.	.	.	.	<i>Stop codon</i>	Sí (mutación <i>de novo</i> )
<i>LMNA</i>	NM_170707.3:c.265C>T	p.R89C	#5	Sí <sup>§</sup>	No	Alto	Deletérea (0,00)	Probablemente dañina (0,996)	Causa de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	Sí (mutación <i>de novo</i> )
<i>LMNA</i>	NM_170707.3:c.1046_1047delGGinsTT	p.R349L	#26	Sí	No	.	.	.	.	<i>Missense</i>	No demostrada
<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.1457_1457+1delGGinsCT	p.W486Sfs*45	#10	No	No	.	.	.	.	<i>Stop codon</i>	Sí
<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.2149-1G>A	-	#19	Sí	No	.	.	.	.	<i>Splicing</i> alterado	Sí

MYH7	NM_000257.2:c.2156G>A	p.R719Q	#1	Sí	No	Alto	Deletérea (0,00)	Benigna (0,294)	Causa de enfermedad (0,936)	Missense	Sí
MYH7	NM_000257.2:c.2302G>A	p.G768R	#14, #22	Sí	No	Alto	Deletérea (0,00)	Probablemente dañina (0,992)	Causa de enfermedad (1,000)	Missense	Sí (#14)
MYH7	NM_000257.2:c.2087A>G	p.N696S	#17	Sí	No	Alto	Deletérea (0,00)	Benigna (0,053)	Causa de enfermedad (1,000)	Missense	No demostrada
TCAP	NM_003673.3:c.187C>T	p.R63C	#24	Sí	No	Medio	Deletérea (0,00)	Benigna (0,001)	Causante de enfermedad (0,999)	Missense	Sí
TNNI3	NM_000363.4:c.575G>A	p.R192H	#16	Sí	No	Alto	Tolerada (0,08)	Probablemente dañina (0,994)	Causa de enfermedad (0,999)	Missense	Sí (mutación <i>de novo</i> )
TNNT2	NM_001001430.1:c.820_821delGT	p.V274Lfs*8	#23	No	No	.	.	.	.	Stop codon	No demostrada
TPM1	NM_001018005.1:c.574G>A	p.E192K	#3	Sí	No	Medio	Deletérea (0,00)	Benigna (0,053)	Causa de enfermedad (1,000)	Missense	Sí

\* Las variantes genéticas están expresadas según (GRCh37.p13). Último acceso en Julio de 2015.

§ Descrita como causal de síndrome de Emery-Dreifuss sin cardiopatía asociada <sup>(119)</sup>.



**Tabla 15. Variantes de significado incierto**

Gen	Mutación*	Producto	Caso	Descrita	Presente controles	Conservación	SIFT (score)	Polyphen-2 (score)	Mutation Taster (score)	Consecuencia	Cosegregación	Clasificación final
<i>ACTN2</i>	NM_001103.2:c.641T>C	p.L214P	#28	No	No	Alta	Deletérea (0,01)	Probable dañina (0,996)	Causante de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	No estudiada	VSI
<i>BAG3</i>	NM_004281.3:c.1702A>C	p.T568P	#9	No	No	Pobre	Tolerada (0,09)	Benigna (0,003)	Polimorfismo (0,973)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>DES</i>	NM_001927.3:c.1236G>C	p.E412D	#29	No	No	Alta	Deletérea (0,00)	Benigna (0,247)	Causante de enfermedad (0,996)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>FHOD3</i>	NM_025135.2:c.4178T>G	p.V1393G	#15	No	No	Alta	Deletérea (0,03)	Benigna (0,011)	Causante de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>FHOD3</i>	NM_025135.2:c.4240C>T	p.R1414*	#25	No	No	-	-	-	-	<i>Stop codon</i>	No	VSI†
<i>FLNC</i>	NM_001458.4:c.7672G>A	p.G2558S	#13	No	No	Alta	Deletérea (0,00)	Probable dañina (1,000)	Causante de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>FLNC</i>	NM_001458.4:c.8131G>T	p.G2711C	#15	No	No	Alta	Deletérea (0,00)	Probable dañina (1,000)	Causante de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>FLNC</i>	NM_001458.4:c.4636G>A	p.G1546S	#24	No	No	Alta	Deletérea (0,00)	Probable dañina (1,000)	Causante de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	No	No patogénica
<i>FLNC</i>	NM_001458.4:c.7630G>A	p.G2544S	#25	No	No	Alta	Deletérea (0,00)	Probable dañina (1,000)	Causante de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>FLNC</i>	NM_001458.4:c.3553G>A	p.E1185K	#29	No	No	Alta	Deletérea (0,03)	Benigna (0,044)	Causante de enfermedad (0,856)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI

<i>LDB3</i>	NM_001080115.1:c.913G>A	p.E305K	#9	No	No	Pobre	Deletérea (0,02)	Probable dañina (0,997)	Causante de enfermedad (0,915)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>LMNA</i>	NM_170707.3:c.1116G>C	p.E372D	#9	No	No	Alta	Deletérea (0,00)	Probable dañina (1,000)	Causante de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.3709A>C	p.T1237P	#11	No	No	Alta	Deletérea (0,00)	Probable dañina (0,999)	Causante de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.1457+2T>G	-	#20	No	No	-	-	-	-	<i>Splicing</i> alterado	No demostrada	VSI
<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.3742G>A	p.G1248R	#28	Sí	No	Alto	Deletérea (0,00)	Posiblemen te dañina (0,563)	Causa de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>MYH6</i>	NM_002471.3:c.1042G>A	p.A348T	#24	No	No	Medio	Tolerada (0,36)	Benigna (0,099)	Polimorfismo (1,000)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>MYL2</i>	NM_000432.3:c.430C>G	p.P144A	#2	No	No	Muy alta	Tolerada (0,32)	Posible dañina (0,532)	Causante de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	No	No patogénica
<i>MYL3</i>	NM_000258.2:c.152T>C	p.I51T	#22	No	No	Muy alta	Deletérea (0,01)	Benigna (0,366)	Causante de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	No estudiada	VSI
<i>NEXN</i>	NM_144573.3:c.979A>G	p. R327G	#17	No	No	Alta	Deletérea (0,03)	Benigna (0,050)	Causante de enfermedad (0,991)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>PKP2</i>	NM_004572.3:c.2084G>A	p.R695H	#23	No	No	Alta	Deletérea (0,04)	Probable dañina (0,980)	Causante de enfermedad (0,745)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>SCN5A</i>	NM_198056.2:c.1333C>G	p.H445D	#18	Sí	No	Medio	Tolerada (0,13)	Benigna (0,014)	Causante de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	No estudiada	VSI

<i>SGCD</i>	NM_000337.5:c.494G>A	p.R165Q	#27	No	No	Muy alta	Deletérea (0,03)	Benigna (0,295)	Causante de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>TNNC1</i>	NM_003280.2:c.262G>T	p.D88Y	#7	No	No	Alta	Deletérea (0,02)	Posible dañina (0,644)	Causante de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>TTN</i>	NM_003319.4:c.54869G>A	p.G18290D	#11	No	No	-	-	Probable dañina (1,000)	Causante de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>TTN</i>	NM_003319.4:c.36980G>A	p.R12327H	#11	No	No	-	-	Posible dañina (0,613)	Causante de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>TTN</i>	NM_003319.4:c.29747C>T	p.A9916V	#24	No	No	-	-	Benigna (0,000)	Polimorfismo (1,000)	<i>Missense</i>	No	No patogénica
<i>TTN</i>	NM_133378.4:c.22870A>C	p.K7624Q	#24	No	No	Medio	Tolerada (0,11)	Benigna (0,198)	Polimorfismo (0,991)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>TTN</i>	NM_003319.4:c.4261A>G	p.K1421E	#24	No	No	-	-	Benigna (0,334)	Polimorfismo (0,998)	<i>Missense</i>	No demostrada	VSI
<i>TTN</i>	NM_003319.4:c.22768C>T	p.P7590S	#30	No	No	-	-	Probable dañina (0,999)	Causante de enfermedad (1,000)	<i>Missense</i>	No estudiada	VSI
<i>TTN</i>	NM_001267550.1:c.37019C>T	p.P12340L	#32	No	No	-	-	-	-	<i>Missense</i>	No estudiada	VSI
<i>TTN</i>	NM_001267550.1:c.38000C>T	p.S12667L	#32	No	No	-	-	-	-	<i>Missense</i>	No estudiada	VSI

\* Las variantes genéticas están expresadas según (GRCh37.p13). Último acceso en Julio 2015.

**Tabla 16. Otras variantes genéticas relevantes en genes no relacionados con miocardiopatías**

Gen	Mutación*	Producto	Caso	Descrita	Presente controles	MAF (%)	Conservación	SIFT (score)	Polyphen-2 (score)	Mutation Taster (score)	Efecto	Fenotipo	Otros
<i>FBN1</i>	NM_000138.4:c.3058A>G	p.T1020A	#7	Sí	Sí	0,0231	Alta	Tolerada (0,56)	Benigna (0,000)	Polimorfismo (1,000)	<i>Missense</i>	Sd. de Marfan	-
<i>GLA</i>	NM_000169.2:c.525C>A	p. D175E	#22 #31	Sí§	No	-	Alta	Tolerada (0,07)	Benigna (0,014)	Polimorfismo (0,812)	<i>Missense</i>	Enf. Fabry	Ligada al X
<i>KCNE2</i>	NM_172201.1:c.22A>G	p.T8A	#15	Sí	Sí	0,4921	Alta	Deletérea (0,00)	Probable dañina (0,991)	Causante de enfermedad (0,996)	<i>Missense</i>	SQTL	-
<i>OBSL1</i>	NM_015311.2:c.1273_1274insA	p.T425Nfs*40	#3	Sí	Sí	0,0244	-	-	-	-	<i>Stop Codon</i>	Sd.3M	Recesiva
<i>SCN4B</i>	NM_174934.3:c.562A>G	p.I188V	#21	No	No	-	Pobre	Tolerada (1,00)	Benigna (0,001)	Polimorfismo (1,000)	<i>Missense</i>	FA, SQTL, SMSC	-
<i>TRPM4</i>	NM_017636.3:c.2295_2296insG	p.R766Afs*193	#5	No	No	-	-	-	-	-	<i>Stop Codon</i>	BAV familiar	-

\* Las variantes genéticas están expresadas según (GRCh37.p13); § Variante considerada como no patogénica en la literatura <sup>(120)</sup>. Último acceso en Julio 2015.

BAV: bloqueo auriculoventricular; Sd: síndrome; SQTL: síndrome de QT largo; SMSC: síndrome de muerte súbita cardíaca.

## 6. DISCUSIÓN

Este trabajo examina las bases genéticas de la MCR idiopática. Es la mayor cohorte descrita hasta la fecha de pacientes con MCR idiopática estudiados genéticamente y la primera que emplea las nuevas tecnologías de secuenciación masiva NGS. Los resultados del estudio muestran que la MCR idiopática es principalmente una enfermedad hereditaria en la que múltiples genes están involucrados. También revela que los estudios genéticos empleando las modernas técnicas NGS en combinación con una evaluación familiar detallada permiten la identificación de la mutación causante de la enfermedad en cerca del 60% de los casos. Por último, esta es la primera vez que se identifican mutaciones en los genes *FLNC*, *MYBPC3* y *TCAP*, como causales de MCR.

### 6.1. Características clínicas de la MCR idiopática en programa de TXC

Todos los pacientes de esta cohorte se encontraban en una situación de ICC avanzada (69% en NYHA III y 31% en NYHA IV) en el momento de ser valorados para TXC. Sin embargo, se trata de un grupo de pacientes con un curso clínico especialmente agresivo ya que en el diagnóstico hasta 50% se encontraban en una clase funcional avanzada en comparación con el 28% que refirieron Ammash et al <sup>(18)</sup>. La prevalencia de FA en el ECG (incluyendo el modo VVI) sin embargo fue aparentemente muy similar (72% en nuestra cohorte vs. 74%). En cuanto a las características ecocardiográficas fueron también parecidas la media del diámetro de la aurícula izquierda en paraesternal eje largo ( $52\pm 11$  vs.  $50\pm 9$  mm) y el diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo ( $46\pm 6$  vs.  $47\pm 6$  mm). Donde más diferencia aparente existe es en la función sistólica ventricular izquierda. La FEVI fue algo inferior

en nuestros pacientes ( $52\pm12$  vs.  $59\pm13\%$ ) con una mayor prevalencia de disfunción sistólica ventricular izquierda definida como  $FEVI<50\%$  ( $47\%$  vs.  $16\%$ ), aunque este hecho se explica probablemente porque se trata de una población en estudio para TXC por encontrarse en situación de ICC avanzada. Pocos datos hay sobre pacientes adultos con MCR idiopática en programa de TXC siendo la mayoría de series pediátricas <sup>(121,122)</sup>. En la MCR se sabe que la función sistólica puede estar ligeramente disminuida <sup>(18,50,121,122)</sup>. Algunas series de pacientes con MCR de diferentes etiologías se describe disfunción ventricular muy severa antes del TXC <sup>(110,123)</sup>. Dentro del subgrupo de pacientes con disfunción sistólica ventricular izquierda llama la atención el bajo porcentaje de uso de IECAs o betabloqueantes ( $56\%$  y  $44\%$ ) respectivamente.

**Tabla 17. Características basales de la MCR de nuestra cohorte (A) y de una cohorte histórica americana (B)**

	<b>A (n=32)</b> <b>1993-2014</b>	<b>B (n=227)</b> <b>1987-2010</b>
<b>Edad</b>	41±14	45±14
<b>Varones, n (%)</b>	14 (44)	126 (56)
<b>DM, n (%)</b>	3 (9)	20 (10)
<b>Soporte mecánico<sup>‡</sup></b>	4 (13)	120 (41)
<b>Días en lista TXC</b>	128±114 (93)	162±284 (73)
<b>PAPS, mmHg</b>	52±21	44±15
<b>PAPM, mmHg</b>	36±14	31±11
<b>PCP, mmHg</b>	25±7	22±9
<b>RVP, unidades Wood</b>	2,4±1,2	2,7±2,0
<b>GC, L/m</b>	3,8±1,1	4,2±1,5

Los datos se expresan como media±DS (mediana) o n (%). <sup>‡</sup>Balón de contrapulsación intraaórtico, asistencia ventricular. Datos de la cohorte B procedentes de la referencia (56).

DM: diabetes mellitus; GC: gasto cardíaco; PAPS: presión arterial pulmonar sistólica; PAPM: presión arterial pulmonar media; PCP: presión capilar pulmonar; RVP: resistencia vascular pulmonar; TXC: trasplante cardíaco

Las características de la evaluación preTXC de nuestros pacientes son aparentemente similares a las descritas en los pacientes con MCR idiopática de un registro americano

de trasplante (tabla 17) <sup>(56)</sup>. En nuestra cohorte sin embargo, hay un predominio de mujeres (ratio varón/mujer de 1/1,3) como se había descrito previamente en MCR <sup>(18)</sup> y la edad media es algo inferior, debido probablemente a que en dicho registro se excluyeron los menores de 18 años. Otro hallazgo diferencial es el uso de dispositivos de asistencia circulatoria mucho menos frecuente en nuestra serie, probablemente por la mayor disponibilidad de órganos para TXC en nuestro medio.

## 6.2. Base genética de la miocardiopatía restrictiva

La existencia de una base genética en la MCR idiopática se ha conocido desde al menos dos décadas. A lo largo de los años 90 se reportaron las primeras familias con varios individuos afectados con MCR <sup>(61,62)</sup> o con varios tipos de miocardiopatías dentro de la misma familia <sup>(29,63)</sup>. El primer gen relacionado con MCR fue la desmina. Ya se había demostrado la existencia de inclusiones de la proteína desnaturalizada en BEM de pacientes con MCR en el contexto de síndrome con afectación neuromuscular y trastornos de la conducción cardíaca <sup>(29,73)</sup>. En 2003, Mogensen et al. demostraron por primera vez una mutación en un gen sarcomérico, *TNNI3*, causante de MCR en una gran familia inglesa. Además, identificaron otros 6 individuos no emparentados con MCR en los que la enfermedad estaba causada también por mutaciones en el mismo gen <sup>(65)</sup>. Después de esta publicación, se han sucedido otras que relacionaban otros genes como *MYH7*, *TNNT2*, *TPM1*, *ACTC1*, *MYPN*, *DES* y *CRYAB* con la MCR <sup>(7)</sup>. Muy recientemente se ha publicado una gran familia israelí con MCR causada por una mutación *missense* en el gen de la titina <sup>(70)</sup>. A pesar de los avances logrados en la última década, la baja frecuencia de la MCR ha impedido realizar estudios genéticos en grandes cohortes de pacientes con esta enfermedad. Como se ha comentado previamente, la mayor serie publicada hasta la fecha data de 2008 con una cohorte de 12 niños, en la que se testaron 9 genes (8 genes del sarcómero y *DES*) mediante

secuenciación de Sanger. En ese estudio, 4 pacientes presentaron mutaciones que causan enfermedades en 3 genes del sarcómero <sup>(46)</sup>.

En el presente trabajo, se han analizado 77 genes relacionados con miocardiopatías en 32 individuos con MCR idiopática. Los resultados ponen de manifiesto la heterogeneidad genética de la MCR, al encontrarse MP en 9 genes distintos. Además, los resultados confirman que la MCR se asocia principalmente con mutaciones en genes del sarcómero (68% en nuestra cohorte), identificando tres nuevos genes sarcoméricos *FLNC*, *MYBPC3* y *TCAP* asociados a MCR.

No se han descrito casos de MCR debidos a mutaciones patogénicas en *MYBPC3*, aunque sí se han reportado VSI. En la serie de Kaski et al, un paciente tenía una variante intrónica en *MYBPC3* IVS3-82C.T en la que no pudieron establecer su patogenicidad <sup>(46)</sup>. En otra serie posterior, encontraron una variante *missense* *MYBPC3* p.D605G, pero el paciente era portador de una MP en *DES* que se consideró la causa de la enfermedad <sup>(124)</sup>. La ausencia de casos previos de MCR asociados a este gen llama especialmente la atención sobre todo si se tiene en cuenta que la MCR forma parte del espectro de genes sarcoméricos y que el gen *MYBPC3* junto con *MYH7* son los genes con mutaciones causales más frecuentes de MCH.

En cuanto a *FLNC*, se había relacionado vagamente con MCD <sup>(125)</sup> hasta que recientemente una publicación ha demostrado que en este gen que codifica por la proteína filamina C (sarcómero-citoesqueleto) es también parte del espectro genético de la MCH. Curiosamente dos de los pacientes con MCH incluidos en este estudio precisaron TXC debido a ICC por disfunción diastólica grave <sup>(126)</sup>.

*TCAP* es otro gen sarcomérico que codifica por la proteína teletonina localizada en el disco Z y que interacciona con la titina. Las mutaciones en este gen se han asociado principalmente con distrofias musculares y en ocasiones con miocardiopatías, fundamentalmente MCD y MCH <sup>(127)</sup>.



Aunque la mayoría de los genes mutados reportados en este trabajo codifican para proteínas del sarcómero, también se encontraron MP en otros genes no sarcoméricos (*DES*, *LMNA* y *LAMP2*). Las mutaciones en el gen de la desmina (*DES*) se han asociado con MCR desde muchos años atrás. Como se ha comentado, la presencia de trastornos de la conducción y miopatía son importantes características clínicas que deben sugerir alteraciones en este gen cuando se encuentran en individuos MCR (7,9,29,74).

Las mutaciones en el gen de las laminas A y C (*LMNA*), proteínas de la membrana nuclear, también se han relacionado con trastornos de la conducción, miopatía, miocardiopatía dilatada y un mayor riesgo de MS. En esta serie, el único paciente con antecedentes de MS recuperada era portador de mutación patogénica en *LMNA*. La evidencia de una asociación de *LMNA* con la MCR ha sido sólo anecdótica <sup>(89)</sup>. Los dos pacientes con MP en *LMNA* tenían características típicas de MCR (figura 18) con disfunción sistólica leve-moderada (FEVI 47% y 40%) y sin dilatación del ventrículo izquierdo (porcentajes calculados por la fórmula de Henry de 100% y 106%). Además, ambas mutaciones se habían descrito previamente como patogénicas: en el caso #5 la mutación *LMNA* <sup>p.R89C</sup> se ha descrito asociada a distrofia muscular Emery-Dreifuss autosómica dominante sin cardiopatía <sup>(119)</sup> y en el caso #26 la mutación *LMNA* <sup>p.R349L</sup> se había descrito en una familia española con tres casos de MCD y disfunción ventricular moderada-severa sin miopatía que precisaron TXC <sup>(112)</sup>. El estudio familiar confirmó la patogenicidad en el caso #5, al demostrar que era el primer caso en la familia debido a una mutación *de novo* ya que ninguno de los padres fue portador y además de ninguno de los hermanos (apéndice 1).

Finalmente, las mutaciones en *LAMP2* son la causa de la Enfermedad de Danon, enfermedad por depósito de glucógeno lisosómico que puede causar un fenotipo restrictivo <sup>(20,84)</sup>. Aunque los pacientes con formas de MCR sindrómicas fueron excluidos, se ha mantenido en el estudio el único caso (#27) con una mutación

esporádica descrita en *LAMP2* <sup>(113)</sup> ya que la paciente no mostró manifestaciones extracardíacas de la enfermedad y no se había sospechado esta etiología antes de realizar el estudio genético. La enfermedad de Danon es un trastorno hereditario con un patrón de herencia dominante ligado al X, por lo que las manifestaciones en mujeres pueden ser menos acentuadas que en varones, dependiendo de qué cromosoma X se active en las células de un tejido (el mutado o el no mutado) <sup>(128, 129)</sup>.

A pesar del reducido tamaño de la cohorte, se pudieron establecer algunas correlaciones entre el genotipo y el fenotipo. Se pudo relacionar de forma estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) las MP en genes sarcoméricos con la historia familiar de miocardiopatía, hallazgo ya descrito previamente en MCH <sup>(130)</sup> y las MP en genes no sarcoméricos con la presencia de miopatía y peor FEVI en la evaluación preTXC (tabla 13).

En este estudio, hubo al menos 5 casos en los que la mutación causal no pudo ser identificada a pesar de existir un patrón familiar evidente de la enfermedad y en dos de ellos ni siquiera se encontró una variante genética candidata (apéndice 1). Es necesario continuar con las investigaciones para conocer otros genes relacionados con la MCR y así contribuir a esclarecer las bases moleculares de esta enfermedad. Un nuevo enfoque de estudio, mediante la secuenciación del exoma y/o del genoma podría ser de gran utilidad para identificar nuevos genes causantes de MCR.

### **6.3. Test genético y evaluación familiar en la MCR idiopática**

Los actuales documentos de consenso elaborados por las sociedades científicas y grupos de trabajo en cardiopatías familiares no proporcionan recomendaciones claras sobre la utilidad de las pruebas genéticas en pacientes con MCR (tabla 8) <sup>(9,15,16,87)</sup>. En estas guías, los estudios genéticos en la MCR aparecen con un nivel de evidencia C

<sup>(15)</sup> y una recomendación clase IIb <sup>(16)</sup>. Es más, se afirma que debido a la ausencia de datos, se desconoce qué genes deben ser testados y cuál es el rendimiento de las pruebas genéticas en MCR <sup>(9,15,16)</sup>. Únicamente se recomienda el estudio genético ante fenotipos específicos que orienten a etiologías concretas (ej. MCR asociada a miopatía y BAV, debe orientar la búsqueda a mutaciones en *DES*) <sup>(9)</sup> y proponen el estudio de genes sarcoméricos en formas de MCR sin otras manifestaciones extracardíacas. Se estima que con el estudio de dos genes, *TNNI3* y *MYH7* sólo se encontrarán mutaciones causales en menos del 5% de los casos <sup>(16,87)</sup>. Los resultados de este trabajo revelan que la MCR idiopática es principalmente una enfermedad genética siendo los genes más frecuentemente involucrados los sarcoméricos (hasta el 68% de los casos). De hecho, se consideró MCR genéticamente determinada en 24 de los 32 pacientes (75%) pudiéndose llegar al diagnóstico genético en 19 casos (79%). Esta tasa de resultados positivos es similar o incluso superior a la encontrada en otras miocardiopatías hereditarias al menos con las técnicas de secuenciación tradicionales <sup>(9)</sup>. Para la MCH la eficacia del estudio genético secuenciando los 9 genes sarcoméricos principales es del 60%, existiendo la recomendación de realizar pruebas genéticas con clase I y nivel de evidencia B en las últimas guías de práctica clínica <sup>(106)</sup>.

En cuanto a la evaluación familiar, según las recomendaciones actuales los familiares de primer grado de un paciente con MCR deben realizarse revisiones periódicas prácticamente de por vida para el despistaje de la enfermedad (tabla 8) <sup>(9,16)</sup>. Al igual que en otras miocardiopatías hereditarias, la realización del estudio genético cuando se ha identificado la MP permite dar altas (en los no portadores) y organizar seguimientos (en los portadores) además de influir en el manejo clínico y la toma de decisiones en otros aspectos vitales (profesión, actividades deportivas, planificación familiar...) incluyendo el consejo genético. Varios modelos teóricos económicos <sup>(131,132)</sup> y trabajos basados en la práctica clínica diaria <sup>(133)</sup> han demostrado que los estudios

genéticos suponen un beneficio económico y clínico para los pacientes con MCH, y a la luz de los hallazgos del presente trabajo, dichos beneficios podrían extrapolarse a los casos de MCR.

En base a estos resultados, y teniendo en cuenta los beneficios potenciales para los familiares, las pruebas genéticas siempre se deberían ofrecer a los pacientes con MCR idiopática. Las futuras guías de práctica clínica y documentos de consenso sobre los estudios genéticos, debieran mejorar el nivel de recomendación y ampliar el número de genes que se deben testar en la MCR, sobre todo a genes sarcoméricos y a aquellos no sarcoméricos en los que se han documentado mutaciones causales.

#### **6.4. Limitaciones**

La primera limitación que tiene este trabajo es el pequeño tamaño muestral. Esto es debido a la baja prevalencia de la enfermedad ya que es probablemente la menos frecuente de todas las miocardiopatías. A esto se une probablemente las dificultades en el diagnóstico. Como se ha comentado se basan en criterios de exclusión ya que la fisiología restrictiva es un hallazgo común a muchas cardiopatías, especialmente en estadios avanzados de ICC <sup>(1,45,47,129)</sup>. El diagnóstico de MCR idiopática fue realizado por los médicos que trataron a cada paciente. Para la inclusión de los mismos en este estudio se comprobó que cumplían los criterios diagnósticos ya descritos en el apartado de métodos <sup>(1)</sup>.

La inclusión de pacientes en programa de TXC tiene sin embargo otras ventajas que justifican su elección como población de estudio. Estos pacientes desarrollan la enfermedad con su máxima expresividad fenotípica y han sido exhaustivamente estudiados por los respectivos equipos de TXC por lo que la caracterización clínica resultó muy completa, y se garantiza la exclusión de otras causas de MCR. La disponibilidad del corazón explantado para estudios histopatológicos y otros análisis es otra de las ventajas que tienen estos pacientes. Además, tanto los pacientes como sus

familiares establecen una relación muy estrecha con el equipo de TXC, sintiéndose en general predispuestos a colaborar en proyectos de este tipo.

Otras limitaciones se derivan del empleo de la tecnología de secuenciación masiva NGS. Por una parte, existen limitaciones inherentes a la propia técnica, como es garantizar una adecuada secuenciación de todas las regiones de interés (cobertura horizontal) y un determinado número de veces para evitar falsos positivos (cobertura vertical o profundidad). Como se ha comentado en el apartado de métodos, hubo problemas para garantizar la adecuada cobertura horizontal de tres muestras aunque a pesar de ello, se pudo identificar una mutación causal en uno de los casos. La otra gran dificultad que ofrece el NGS es la interpretación de la gran cantidad de información que aporta. La interpretación de las variantes genéticas candidatas es especialmente dificultosa en enfermedades con una elevada heterogeneidad clínica como es el caso de las miocardiopatías. Por ejemplo, cuando se identifica más de una variante en genes previamente relacionados con la enfermedad. El número de variantes genéticas encontradas es mayor y no siempre las implicaciones patológicas han sido probadas <sup>(100,102,103)</sup>. Estas VSI deben ser interpretadas con cautela. No existe un consenso claro acerca de cómo establecer la patogenicidad de las mismas. Hay varias propuestas al respecto, siendo las variables de mayor peso a la hora de establecer su causalidad la cosegregación familiar y en un segundo plano, los estudios funcionales in vitro o en modelos animales <sup>(134-136)</sup>.

En este trabajo, la determinación de la causalidad de las variantes genéticas encontradas noveles (y no descritas como patogénicas) se basó fundamentalmente en el estudio de cosegregación familiar que es el método del que dispone el cardiólogo clínico en su práctica diaria aunque en la mayoría de casos no se pudo demostrar una cosegregación fuerte (más de cinco miembros afectados portadores de la mutación) debido al tamaño reducido de las familias (apéndice 1). Precisamente por el tamaño reducido de las familias, con pocos familiares de primer grado y ausencia de otros

miembros afectados, muchas de las variantes encontradas tuvieron que ser clasificadas como VSI. También son útiles y necesarios para intentar orientar la patogenicidad de los resultados genéticos otros datos como el grado de conservación del aminoácido afectado o los resultados de estudios funcionales mediante herramientas informáticas (predictores *in silico*). No se consideró dentro del protocolo la realización de estudios funcionales *in vitro* o con modelos animales, que podrían aportar información importante acerca de la patogenicidad de las mutaciones.

El grupo de trabajo europeo en miocardiopatías ha publicado recientemente un documento consenso en el que se aboga por el empleo de las técnicas de secuenciación masiva más allá del campo de la investigación, a pesar de las dificultades descritas <sup>(137)</sup>. En el presente trabajo se muestra su utilidad en la “vida real” siempre y cuando la interpretación de los resultados se base en criterios clínicos, como los hallazgos de la evaluación familiar y se mantenga cierto grado de cautela.

La recomendación actual de las guías de práctica clínica para la MCH que consideran que se puede hacer el estudio genético de los familiares cuando se ha identificado una mutación causal sin acompañarlo de un estudio clínico es cuanto menos controvertida <sup>(106)</sup>. Como se ha visto, existen casos de miocardiopatías familiar en la que el gen causal sigue sin conocerse a pesar de haber incluido en el panel de NGS prácticamente todos los genes previamente relacionados con cardiopatías hereditarias y por el contrario, en algunas variantes genéticas que son aparentemente patogénicas, la evaluación familiar permite esclarecer que no son la causa real de la enfermedad, como es el caso de la familia #25 (apéndice 1).

## 7. CONCLUSIONES

1. La miocardiopatía restrictiva idiopática es fundamentalmente una enfermedad de origen genético.
2. Esta es la mayor cohorte de pacientes con miocardiopatía restrictiva idiopática estudiados genéticamente y la primera en emplear las modernas técnicas de secuenciación masiva *Next generation sequencing*.
3. El espectro genético de la miocardiopatía restrictiva es heterogéneo y múltiples genes están implicados con un predominio de los sarcoméricos.
4. Se han identificado nuevos genes causales de miocardiopatía restrictiva idiopática: el gen de la proteína C ligadora de miosina (*MYBPC3*), el gen de la filamina C (*FLNC*) y el gen de la teletonina (*TCAP*).
5. Las técnicas de *next generation sequencing* con paneles de genes relacionados con miocardiopatías junto con una evaluación familiar detallada permiten identificar la mutación causal de la enfermedad en un alto porcentaje de pacientes con MCR (60%).
6. Se debe recomendar la realización de estudio genético en todo paciente con MCR. Los genes a testar son todos los genes sarcoméricos además de *LMNA*, *DES* y *LAMP2*.
7. Existen casos de miocardiopatía restrictiva familiar en las que el gen causante de la enfermedad no ha podido ser identificado. Nuevas formas de aproximación al estudio genético, empleando técnicas de secuenciación masiva para analizar el exoma y/o el genoma permitirán la identificación de nuevos genes relacionados en la etiopatogénesis de esta enfermedad.

## RESUMEN

### Antecedentes

La MCR se caracteriza por una disfunción diastólica grave acompañada de dilatación biauricular en ausencia de hipertrofia o dilatación ventricular izquierda significativa. Está causada por un incremento de la rigidez miocárdica. Esta pérdida de la distensibilidad produce que pequeños incrementos de volumen causen grandes aumentos en la presión intracavitaria, lo que conduce a la aparición de ICC. La MCR es la menos frecuente de las miocardiopatías y su prevalencia real se desconoce <sup>(1, 20)</sup>.

El curso clínico de la MCR es generalmente agresivo, con ICC rápidamente progresiva sin que existan prácticamente tratamientos específicos por lo que para muchos pacientes la única opción será el TXC <sup>(18,20)</sup>.

La MCR puede ser familiar, adquirida o relacionada con enfermedades sistémicas <sup>(1,20)</sup>. La existencia de una posible base genética de la enfermedad se conoce desde hace más de 20 años tras la descripción de familias con varios miembros afectados y con un patrón de herencia autosómico dominante <sup>(29,61,62)</sup>.

Hasta la fecha muy pocos estudios han investigado las características genéticas de la MCR <sup>(46,65,73,74)</sup>. El conocimiento disponible se basa en casos aislados y series pequeñas. De hecho, la serie más larga es de 12 pacientes pediátricos en la que sólo se estudiaron 9 genes <sup>(46)</sup>. Los genes descritos asociados a la MCR han sido principalmente los sarcoméricos, los del complejo desmina (*DES* y *CRYAB*) y otros responsables de enfermedades sistémicas como *GLA* (enfermedad de Fabry) <sup>(21)</sup>. Muchos de estos genes también se han relacionado con otras miocardiopatías hereditarias. De hecho, se han descrito familias en las que coexisten individuos con MCR, MCH y/o MCD <sup>(48,63,96)</sup>. Debido a los pocos trabajos científicos publicados al respecto, el conocimiento sobre el espectro genético de la MCR es escaso. Por ello, las actuales guías y documentos consenso sobre el estudio genético en las



miocardiopatías no establecen unas recomendaciones precisas acerca de la utilidad de las pruebas genéticas en la MCR. Tampoco se conoce qué genes deben ser testados en los pacientes con MCR <sup>(9,15,16,87)</sup>.

La irrupción en el campo de la genómica de las técnicas de secuenciación masiva (*Next generation sequencing*, NGS) que permiten analizar múltiples genes a la vez en poco tiempo y a un coste razonable <sup>(100)</sup>, ofrece una oportunidad única para el estudio de las bases genéticas de enfermedades infrecuentes y con una base genética heterogénea, que no habían podido ser apenas estudiadas con las técnicas tradicionales. Este es el caso de la MCR idiopática.

### **Objetivo**

El objetivo principal de este trabajo es realizar la caracterización clínica y genética de una cohorte de pacientes con MCR estudiados en Unidades de TXC y determinar la utilidad de las nuevas técnicas de ultrasecuenciación masiva en el diagnóstico genético en esta patología.

### **Método**

Estudio transversal multicéntrico descriptivo de las características clínicas y genéticas de 32 pacientes no emparentados con MCR atendidos en 7 centros españoles con programa de TXC.

Se incluyeron pacientes que cumplieran los criterios diagnósticos de MCR idiopática <sup>(1)</sup> en el momento de la evaluación inicial para TXC en ausencia de pericarditis constrictiva y otras causas o enfermedades sistémicas que pudieran justificar la MCR <sup>(20)</sup>. La disfunción ventricular sistólica no se consideró un criterio de exclusión <sup>(18)</sup>.

El estudio genético se realizó mediante un panel de NGS de al menos 209 genes relacionados con cardiopatías hereditarias. Se incluyeron 77 genes previamente relacionados con miocardiopatías y 16 específicamente con MCR.

Las variante genéticas encontradas fueron clasificadas inicialmente como mutaciones patogénicas (MP) si (i) se habían descrito previamente como mutaciones causales de miocardiopatía (MCR, MCH y/o MCD) o (ii) eran mutaciones novedales no presentes en controles en un gen previamente relacionado con miocardiopatías y que predecían truncamiento, cambio en el marco de lectura o alteraciones en el ensamblaje de la proteína. Las variantes genéticas fueron clasificadas como variantes de significado incierto (VSI) si se trataba de una mutación novel no descrita en controles en un gen relacionado con miocardiopatías que producían un cambio aislado de aminoácido.

Las VSI fueron reclasificadas tras la evaluación familiar. En aquellos casos en los que se demostró cosegregación de la mutación con los casos afectados en la familia, se consideró una MP. Por el contrario, si no cosegregaba la mutación se consideró no patogénica. Finalmente, todas las VSI en las que el estudio familiar no fue concluyente o no se pudo realizar, permanecieron como VSI.

Se ofreció estudio clínico y genético a todos los familiares de primer grado de los probandos, tras haber sido informados y haberles proporcionado consejo genético. Todos los participantes firmaron el consentimiento informado.

Se definió MCR hereditaria o familiar en aquellos casos en los que (i) se identificó la mutación causal de la enfermedad o (ii) si había más de un individuo afecto en la familia aunque no se llegara a identificar una MP.

## Resultados

Se incluyeron 32 pacientes no emparentados con el diagnóstico de MCR idiopática. La edad media en la evaluación inicial fue de  $41 \pm 14$  años (rango 10-63), 14 (44%) pacientes eran varones y 27 (84%) recibieron finalmente TXC.

Al final del estudio, se ha identificado la mutación causante de la MCR en 19 pacientes (60%); 11 pacientes (34%) mostraron sólo VSI y 2 (6%) no mostraron ninguna posible mutación causante de la enfermedad.

Los genes con MP fueron *FLNC* (3 mutaciones), *MYH7* (3), *DES* (2), *MYBPC3* (2), *LMNA* (2), *TCAP* (1), *TNNI3* (1), *TNNT2* (1), *TPM1* (1), y *LAMP2* (1). El 68% fueron genes sarcoméricos. Tres de las 16 MP encontradas (*DES* p.R454W, *MYH7* p.G768R y *TNNI3* p.R192H) habían sido descritas previamente como causantes de MCR<sup>(65,90,111)</sup>, mientras que otras se habían reportado en relación con MCH o MCD<sup>(112-117)</sup>. Hasta la fecha no se habían descrito mutaciones en los genes *FLNC*, *MYBPC3* y *TCAP* causantes de MCR y, que se sepa, sólo existe un artículo en el que se reporta un caso de MCR asociado a una mutación en *LMNA* en el contexto de síndrome de Emery-Dreifuss<sup>(89)</sup>.

La evaluación familiar incluyó el estudio clínico de 94 familiares y genético de 89 (95%) procedentes de 26 familias (81%). Se estudió al menos un familiar de 14 de las 17 familias con MP y de 11 de las 14 familias con sólo VSI. La evaluación familiar permitió la reclasificación de 6 VSI en tres MP y tres no patogénicas, corroborando la patogenicidad de las MP encontradas en 13 de los 19 casos (8 por cosegregación y 5 por ser mutaciones *de novo*). Además una MP (truncamiento en *FHOD3*) tuvo que ser reclasificada como VSI al no coincidir la rama de la que provenía con la historia de MCR familiar. En siete casos la evaluación familiar resultó no concluyente, por lo que las variantes genéticas encontradas permanecieron como VSI.

En relación con las características clínicas, 10 pacientes tenían trastornos de la conducción con algún grado de BAV y mutaciones en los siguientes genes: *DES* (3 sujetos), *LMNA* (2), *FLNC* (1), *MYBPC3* (1), *MYH7* (1), *TNNI3* (1) y gen desconocido (1). Se documentaron cifras elevadas de CPK asociado o no a síntomas de miopatía en 5 sujetos que tenían mutaciones en los *DES* (3 sujetos), *MYH7* (1) y *LMNA* (1) siendo más frecuente la miopatía en el grupo de pacientes con MP en genes no sarcoméricos que en genes sarcoméricos (67% vs. 8%; p=0,017).

Tras la evaluación familiar y los estudios genéticos, 24 casos cumplieron criterios de MCR familiar (75%), habiéndose encontrado la mutación responsable de la

enfermedad en 19 casos (79%). La evaluación de 76 familiares en los casos en los que la MCR se consideró hereditaria identificó 9 individuos con criterios de MCH, 7 con fenotipo mixto MCH-MCR y 3 con MCR. Además, se encontraron 5 portadores asintomáticos de una MP sin signos de enfermedad y 2 portadores asintomáticos con alteraciones no diagnósticas en el ECG y/o ecocardiograma.

## Conclusiones

Este trabajo examina las bases genéticas de la MCR idiopática. Es la mayor cohorte reportada hasta la fecha de pacientes con MCR idiopática estudiados genéticamente y el primero que emplea las tecnologías de secuenciación masiva NGS. Los resultados del estudio muestran que la MCR idiopática es principalmente una enfermedad genética en la que múltiples genes están involucrados. También revela que los estudios genéticos empleando las modernas técnicas NGS en combinación con una evaluación familiar detallada permiten la identificación de la mutación causante de la enfermedad hasta en un 60% de los casos. Si se consideran las formas de MCR con presentación familiar, la rentabilidad del estudio genético es mayor (79% de resultados positivos). Por último, esta es la primera vez que se identifican mutaciones en los genes *FLNC*, *MYBPC3* y *TCAP* como causa de MCR.

Aunque son necesarios más estudios y en cohortes más amplias de pacientes, estos resultados aconsejan reconsiderar las recomendaciones actuales sobre el estudio genético en la MCR idiopática.

## APÉNDICES

### ▪ Apéndice 1. Árboles familiares

Los cuadrados y círculos indican sujetos varones y femeninos respectivamente. La flecha señala el caso índice. Los símbolos sombreados indican sujetos afectados por la enfermedad. Una raya vertical que atraviesa el símbolo significa fenotipo incompleto, posiblemente afectado. Un punto dentro del símbolo significa portador asintomático, sin signos de la enfermedad. Un interrogante dentro del símbolo significa que el sujeto podría ser o haber sido afecto pero que no se ha podido comprobar. Una raya oblicua que atraviesa y sobresale del símbolo significa que el sujeto ha fallecido. Símbolos que contienen la letra N, significa sujeto no afecto y no portador de mutaciones. El + en la parte superior derecha del símbolo, significa que es portador de mutación, el - que no es portador. Cuando aparecen varios símbolos, el orden se refiere al que se ha empleado para presentar las variantes genéticas en el cuadrante superior izquierdo.

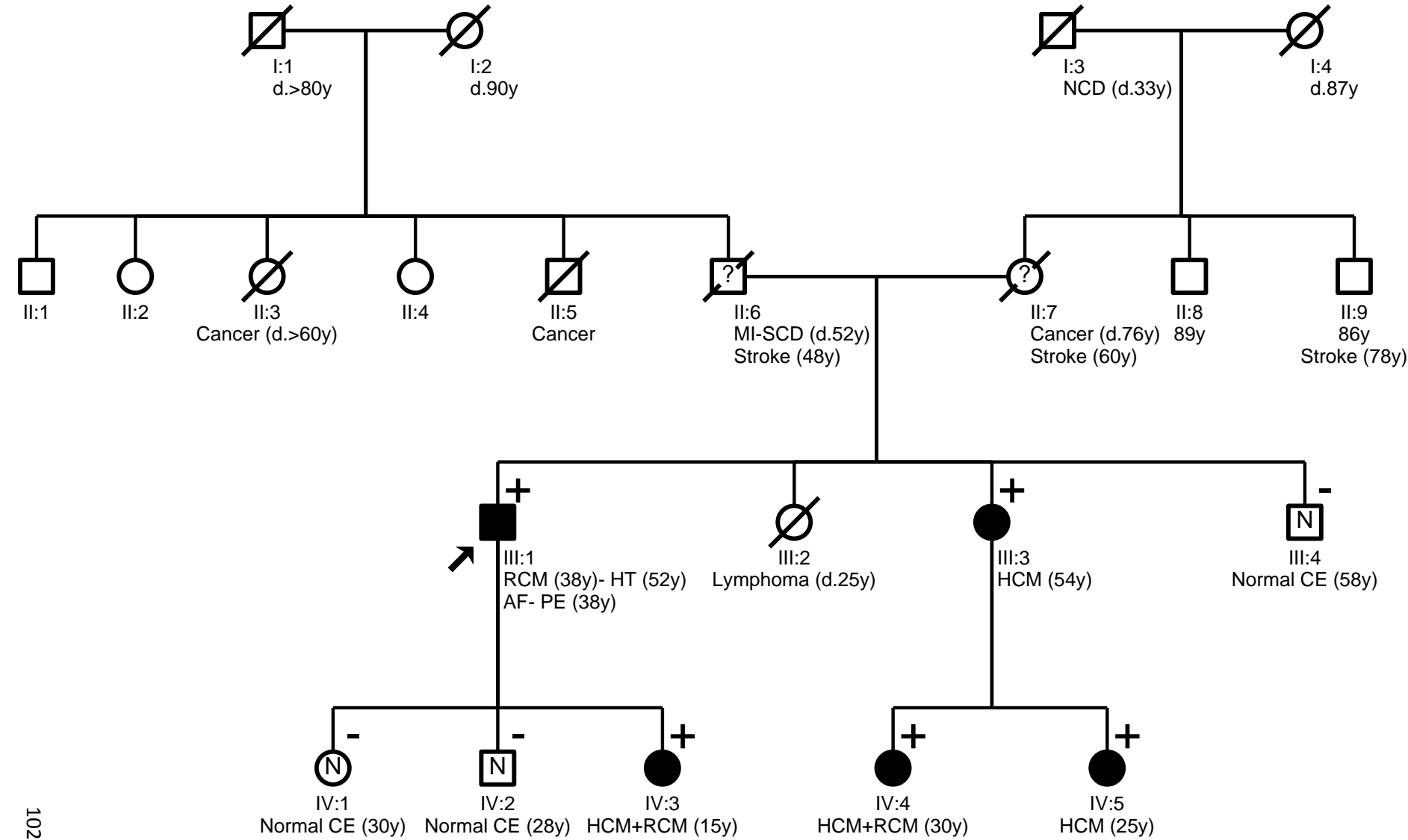
Los árboles familiares se han dibujado de acuerdo a las recomendaciones vigentes <sup>(109)</sup>, utilizando el programa informático *Cyrillic* versión 2.1 (Cyrillic software; United Kingdom)

#### Tabla A1. Glosario

AVB: bloqueo auriculoventricular; AF: fibrilación auricular; Ao: aórtico; CAD: enfermedad arterial coronaria; CE: evaluación clínica; CM: miocardiopatía; d: fallecido; DD: disfunción diastólica; ESKF: insuficiencia renal en estadio final; GT: test genético; HCM: miocardiopatía hipertrófica; HF: insuficiencia cardíaca; HT: trasplante cardíaco; ICD: desfibrilador automático implantable; IVS: septo interventricular; LBBB: bloqueo de rama izquierda; LGE: realce tardío de Gadolinio; MI: infarto de miocardio; NCD: muerte no cardíaca; NP: no patogénica; OSA: apnea obstructiva del sueño; P: patogénica; PE: embolismo periférico; PHT: hipertensión pulmonar; PM: marcapasos; RBBB: bloqueo de rama derecha; RCM: miocardiopatía restrictiva; SB: aborto; SCD: muerte súbita cardíaca; SSS: disfunción sinusal; VAD: asistencia ventricular; VSI: variante de significado incierto; WPW: Wolff-Parkinson-White; y: años.

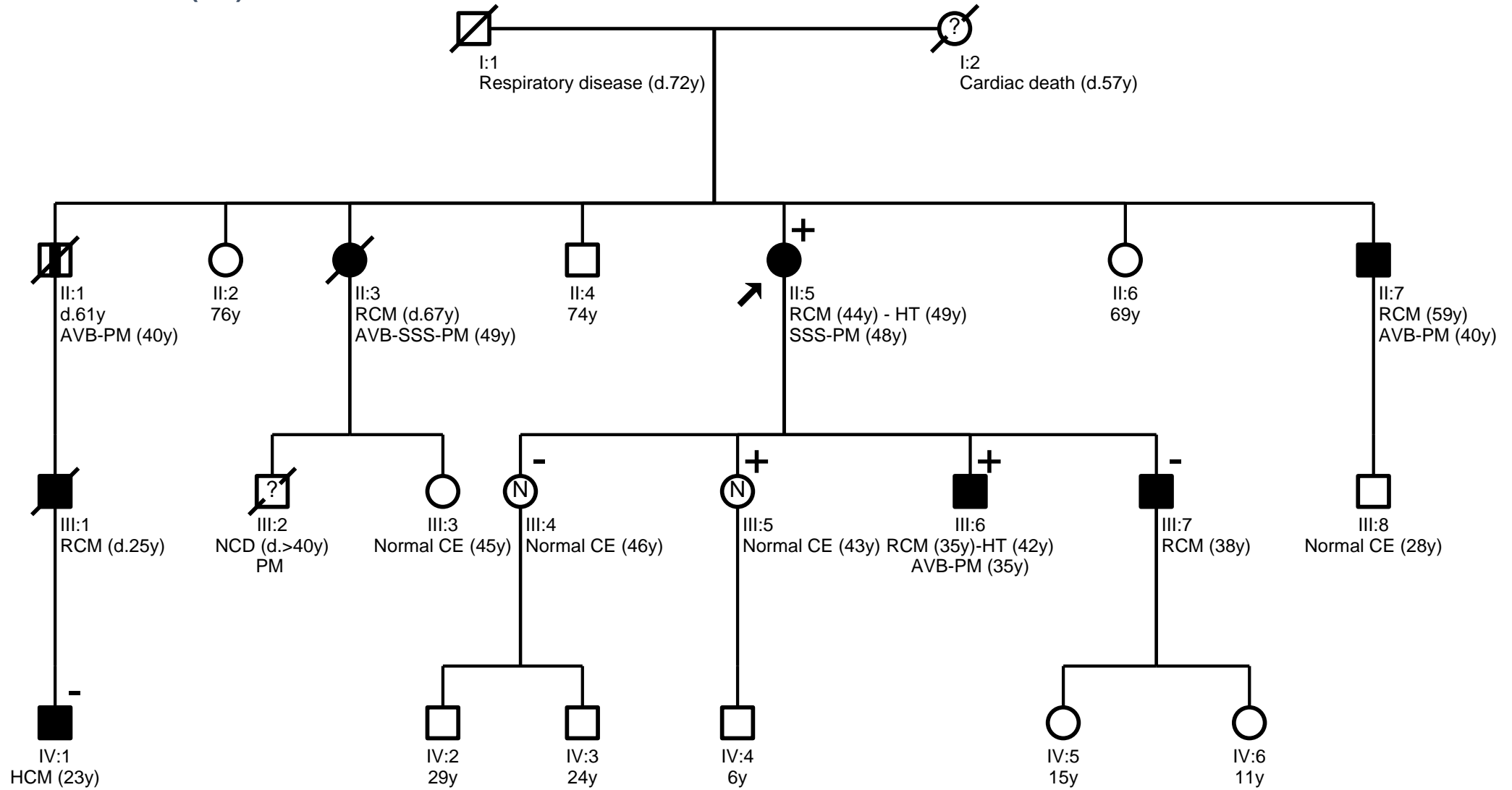
Familia #1

MYH7<sup>c.2156G>A</sup> (P)



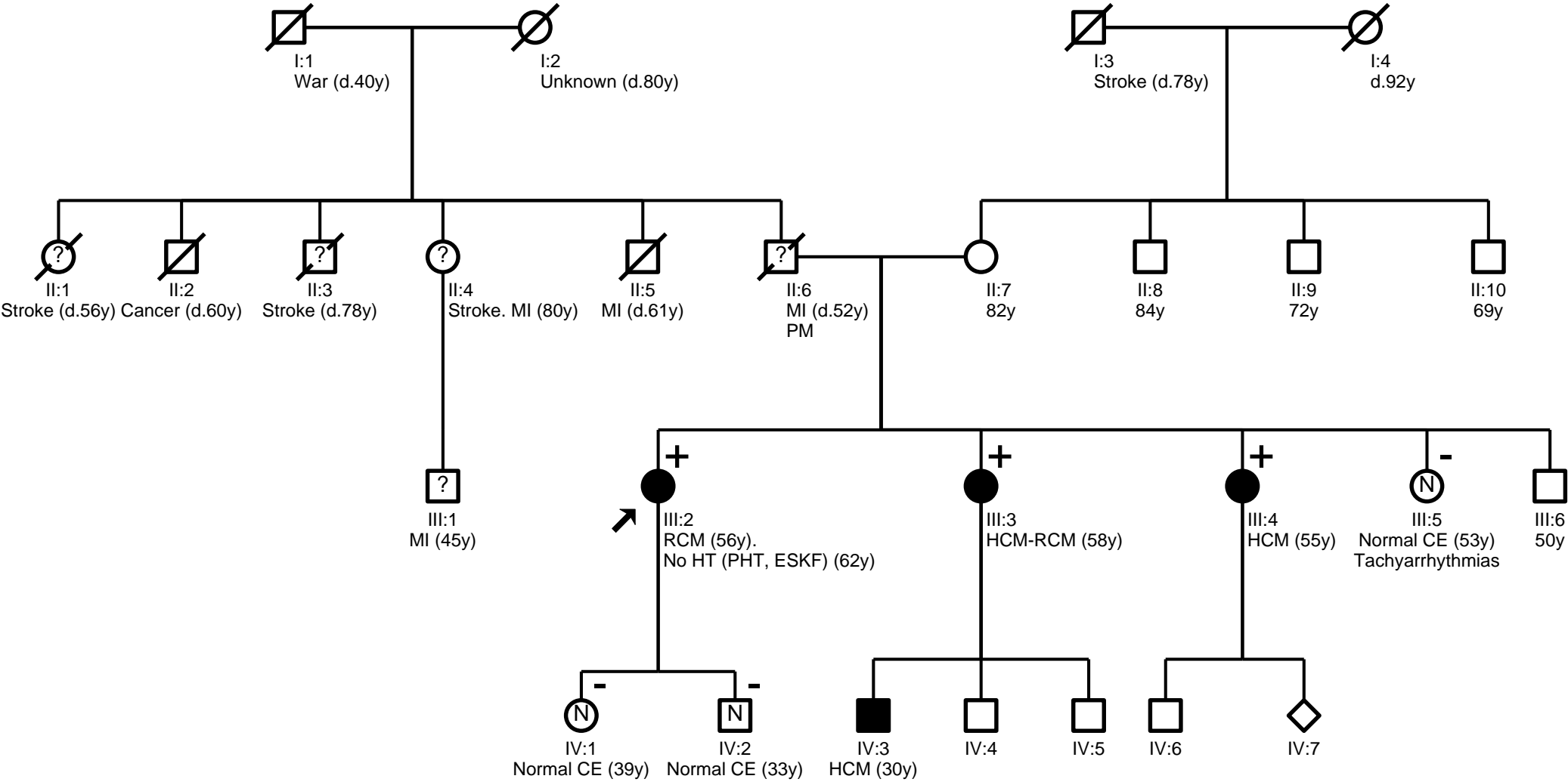
## Familia #2

*MYL2*<sup>c.430C>G</sup> (NP)



Familia #3

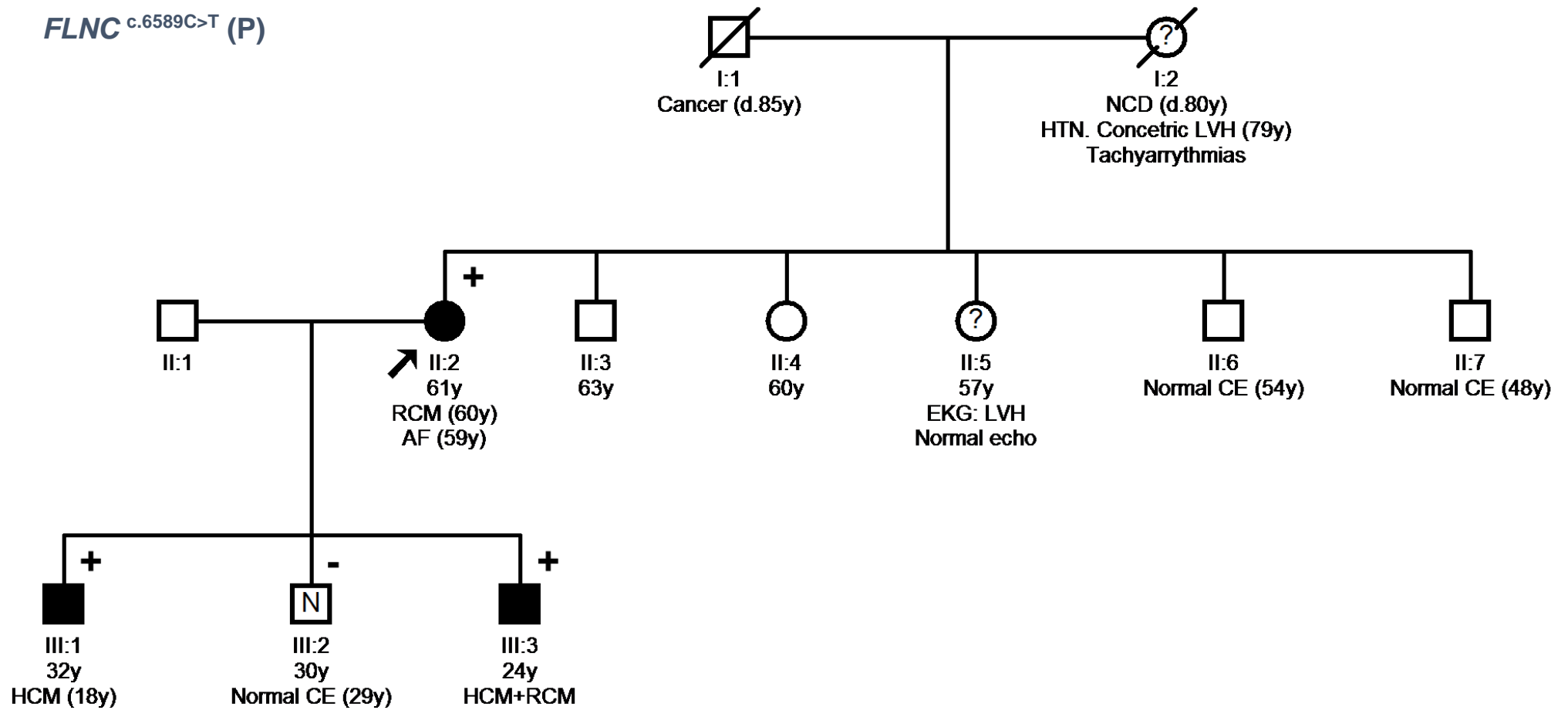
*TPM1*<sup>c.574G>A</sup> (P)





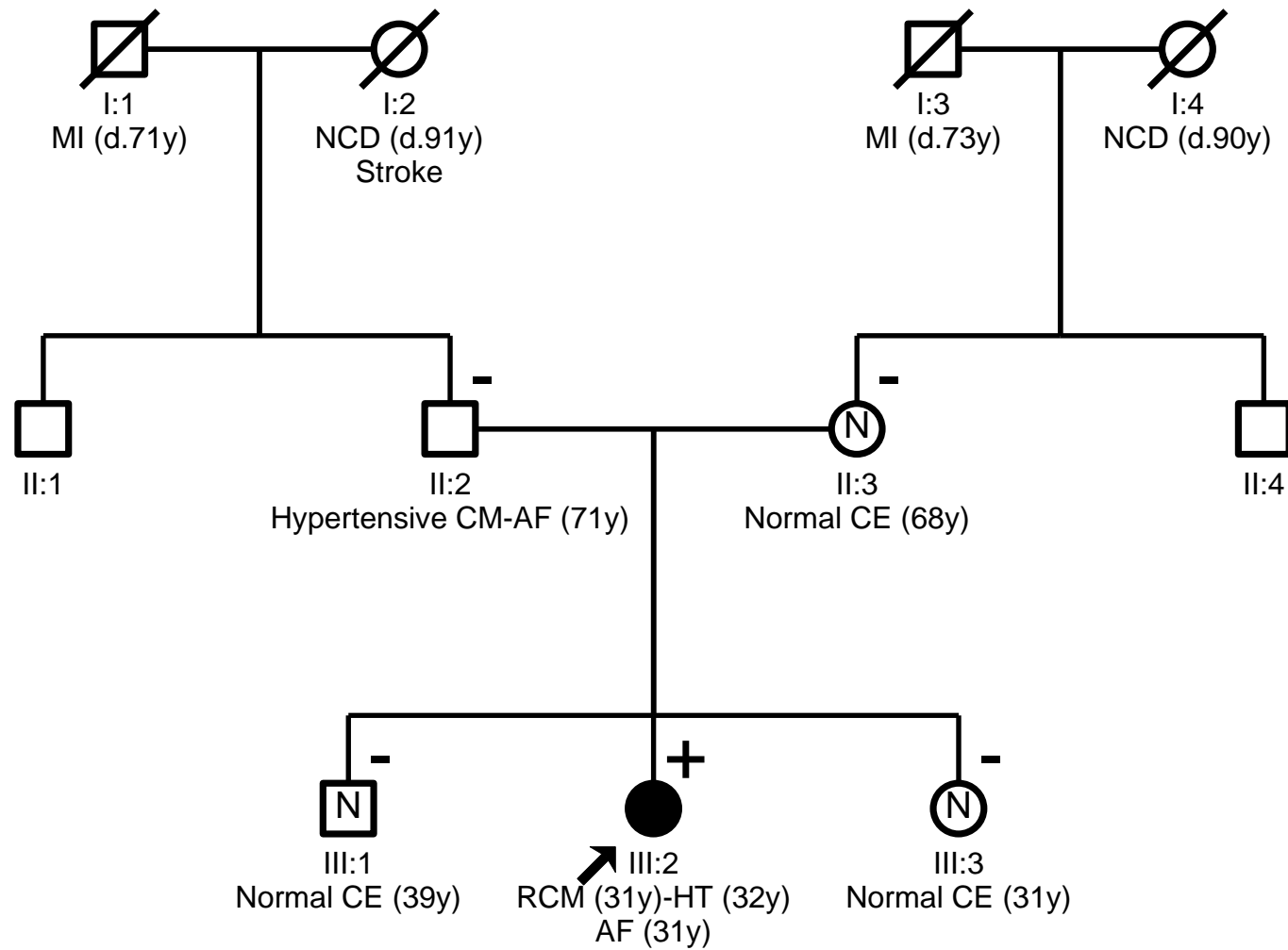
## Familia #4

**FLNC** c.6589C>T (P)



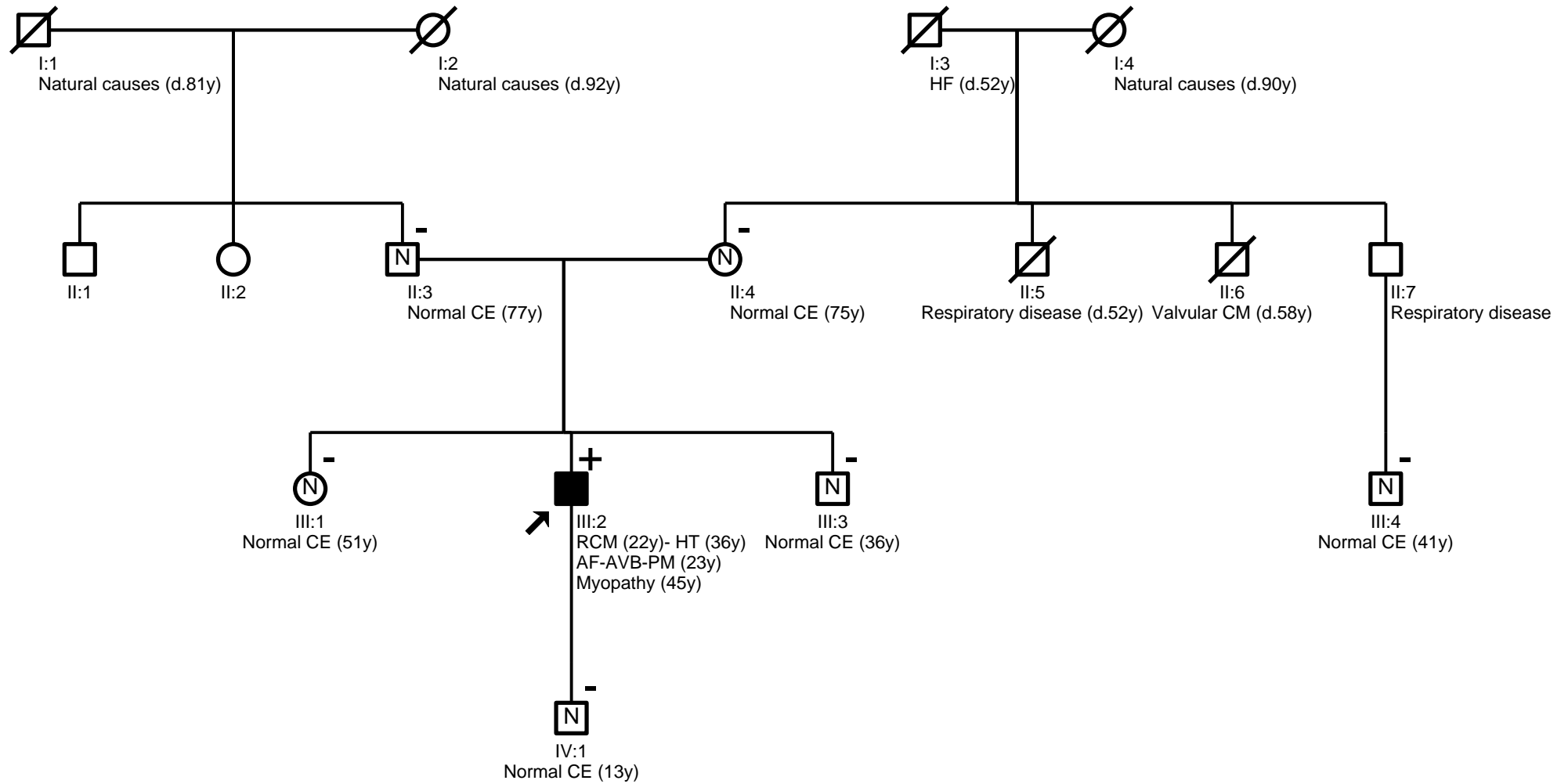
## Familia #5

*LMNA*<sup>c.265C>T</sup> (P)



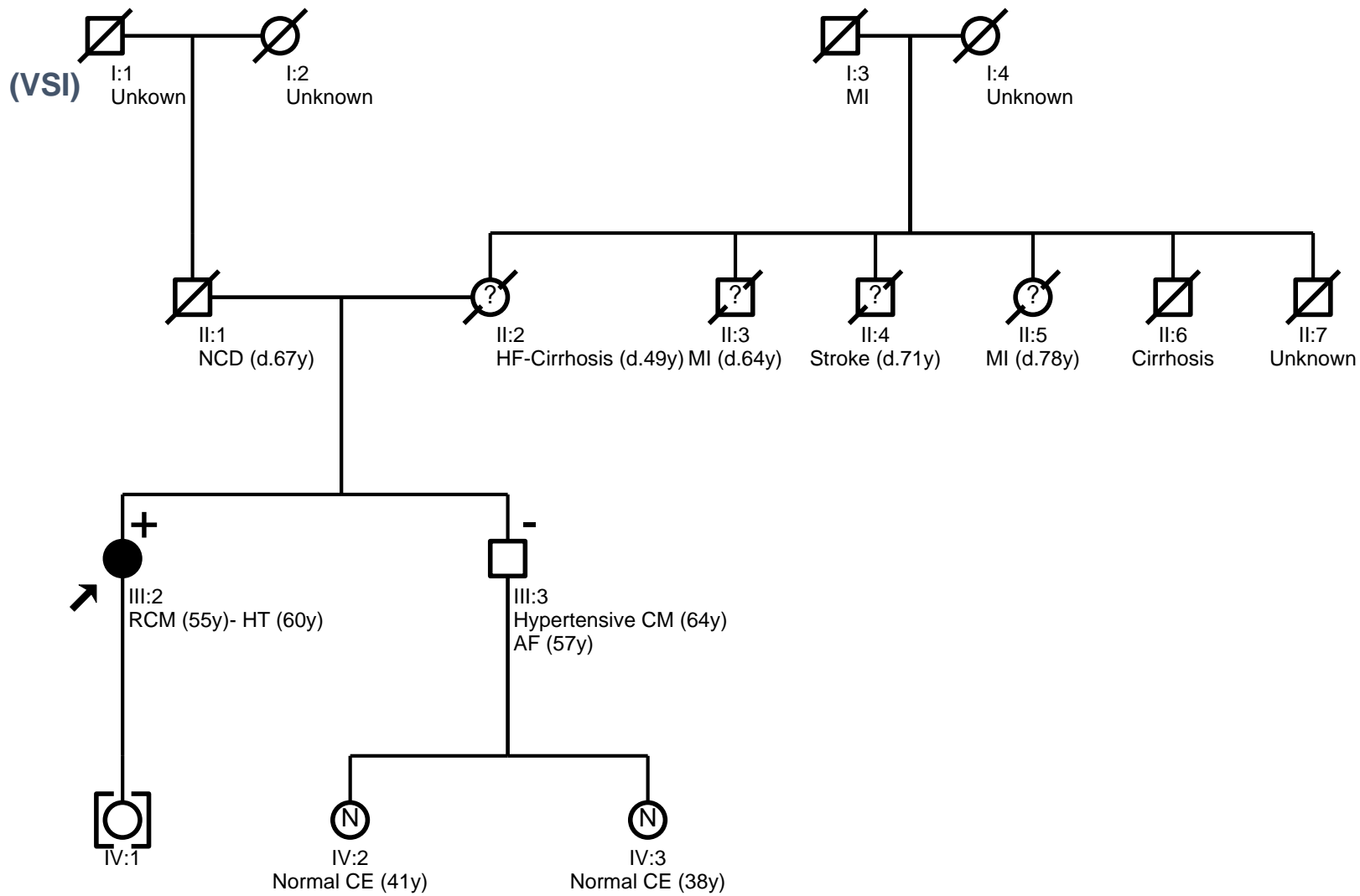
## Familia #6

c.640-10delCinsACGTGGATGCAG  
*DES* (P)



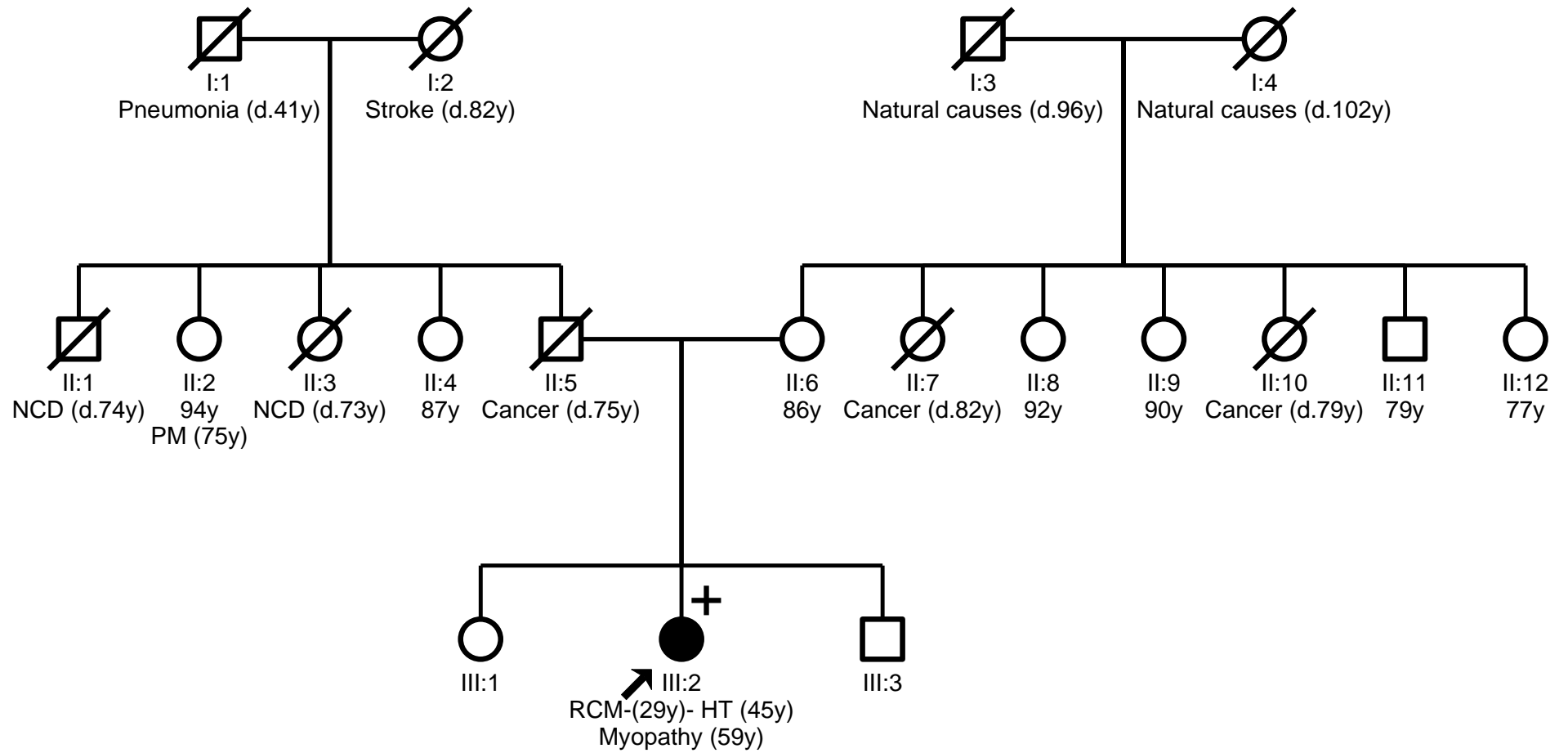
# Familia #7

*TNNC1*<sup>c.262G>T</sup>  
(VSI)



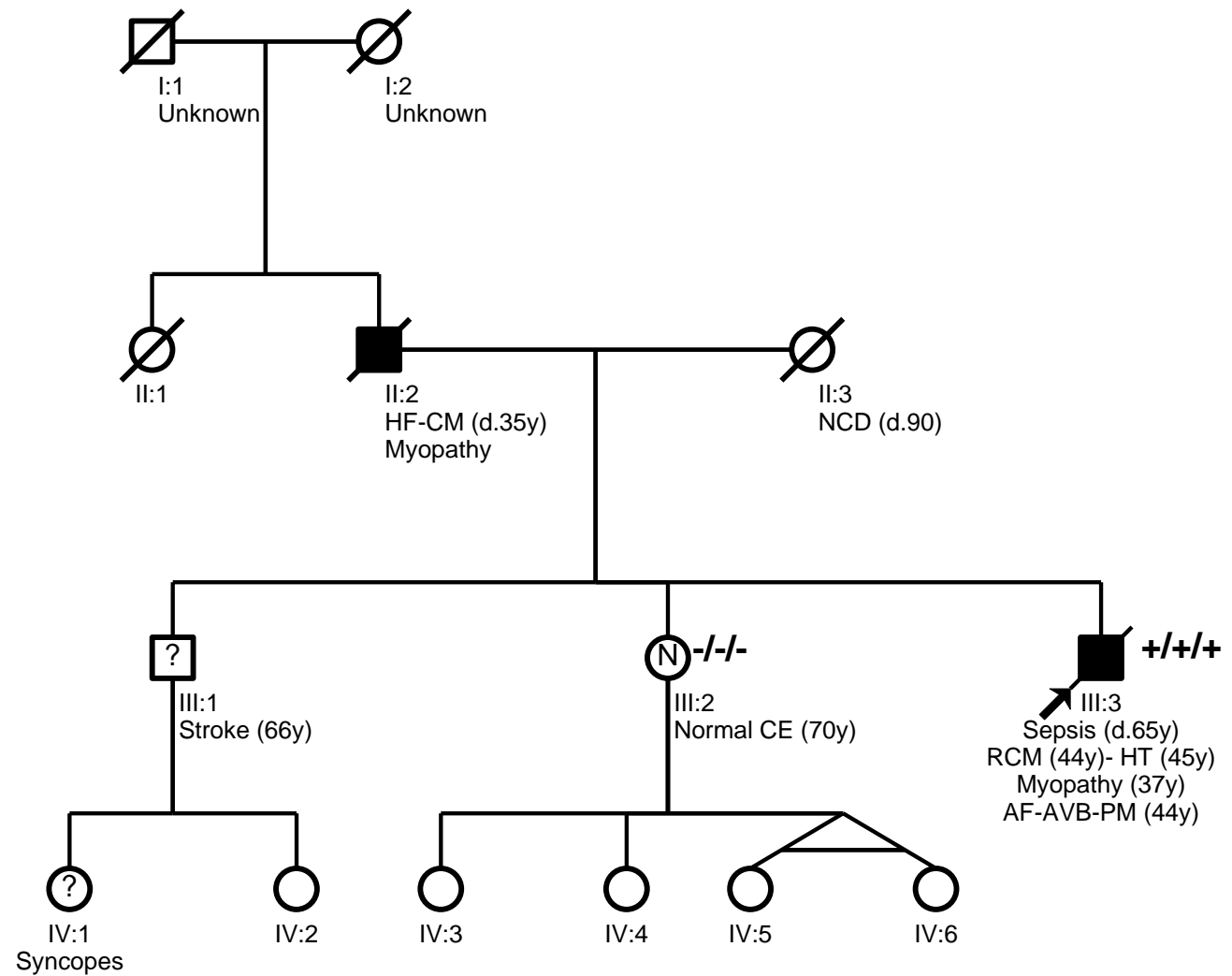
## Familia #8

*FLNC*<sup>c.4927+1delG</sup> (P)



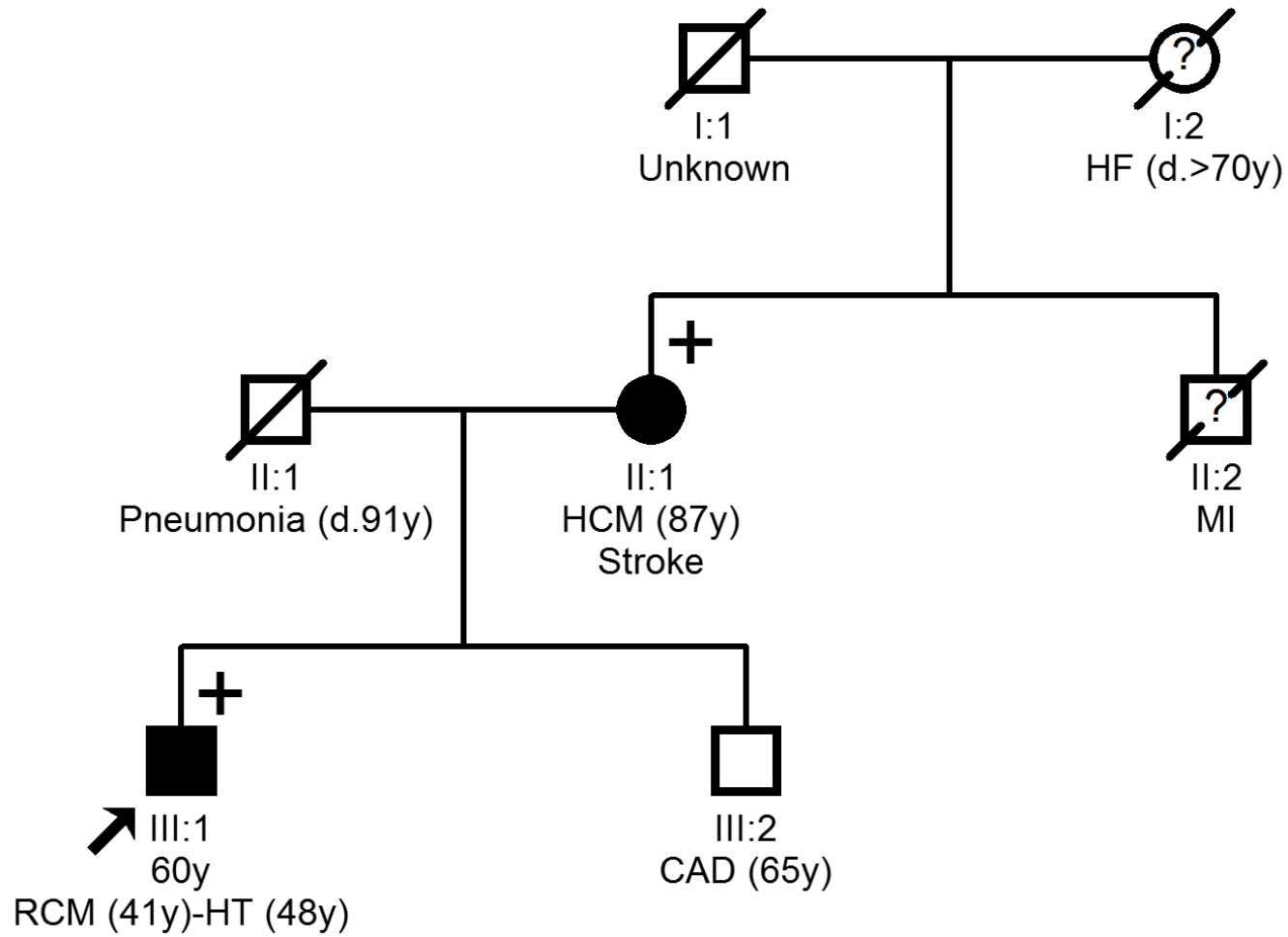
## Familia #9

*LMNA*<sup>c.1116G>C</sup> (VSI), *BAG3*<sup>c.1702A>C</sup> (VSI), *LDB3*<sup>c.913G>A</sup> (VSI)



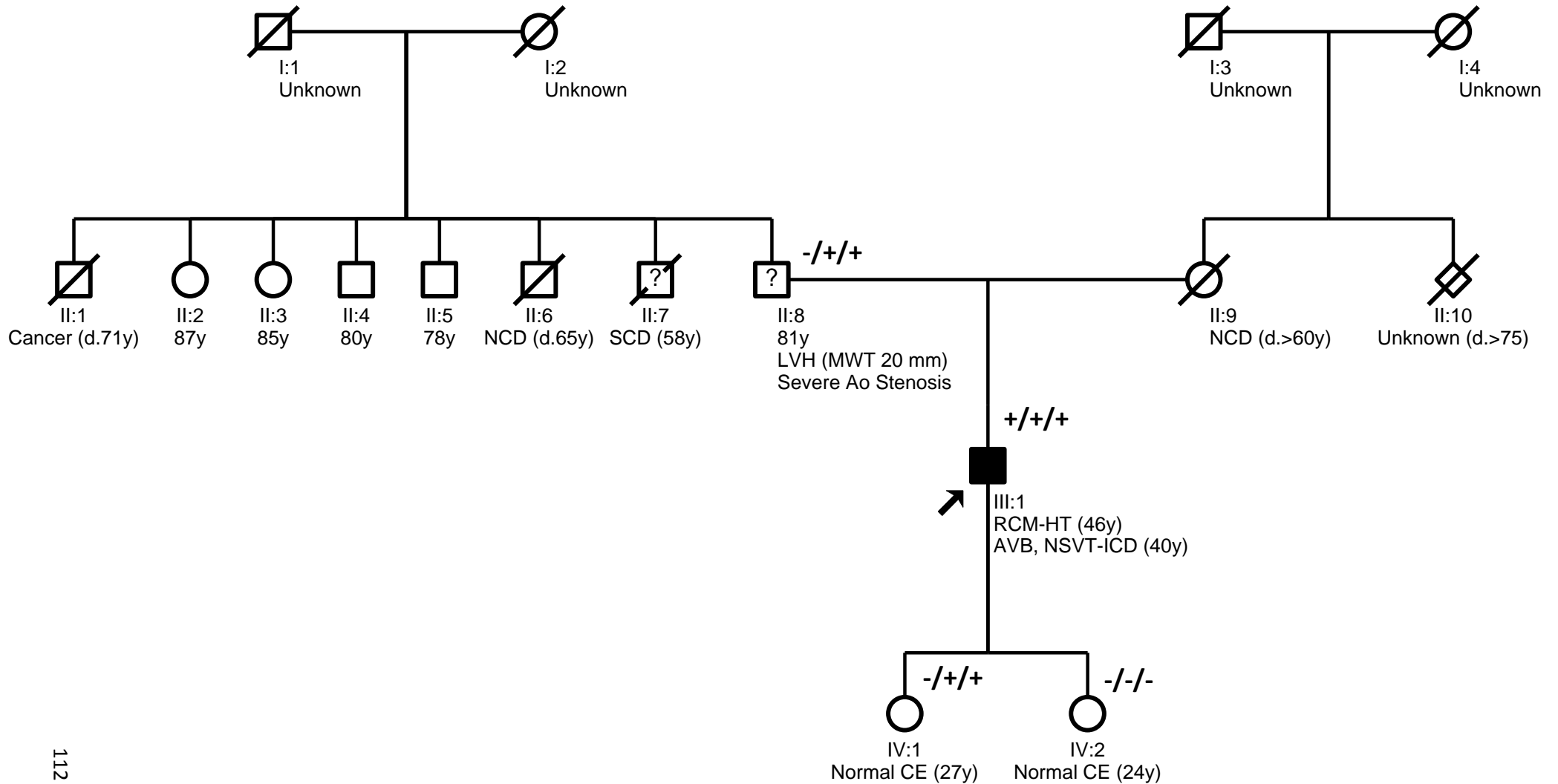
## Familia #10

*MYBPC3*<sup>c.1457\_1457+1delGGinsC</sup> (P)



## Familia #11

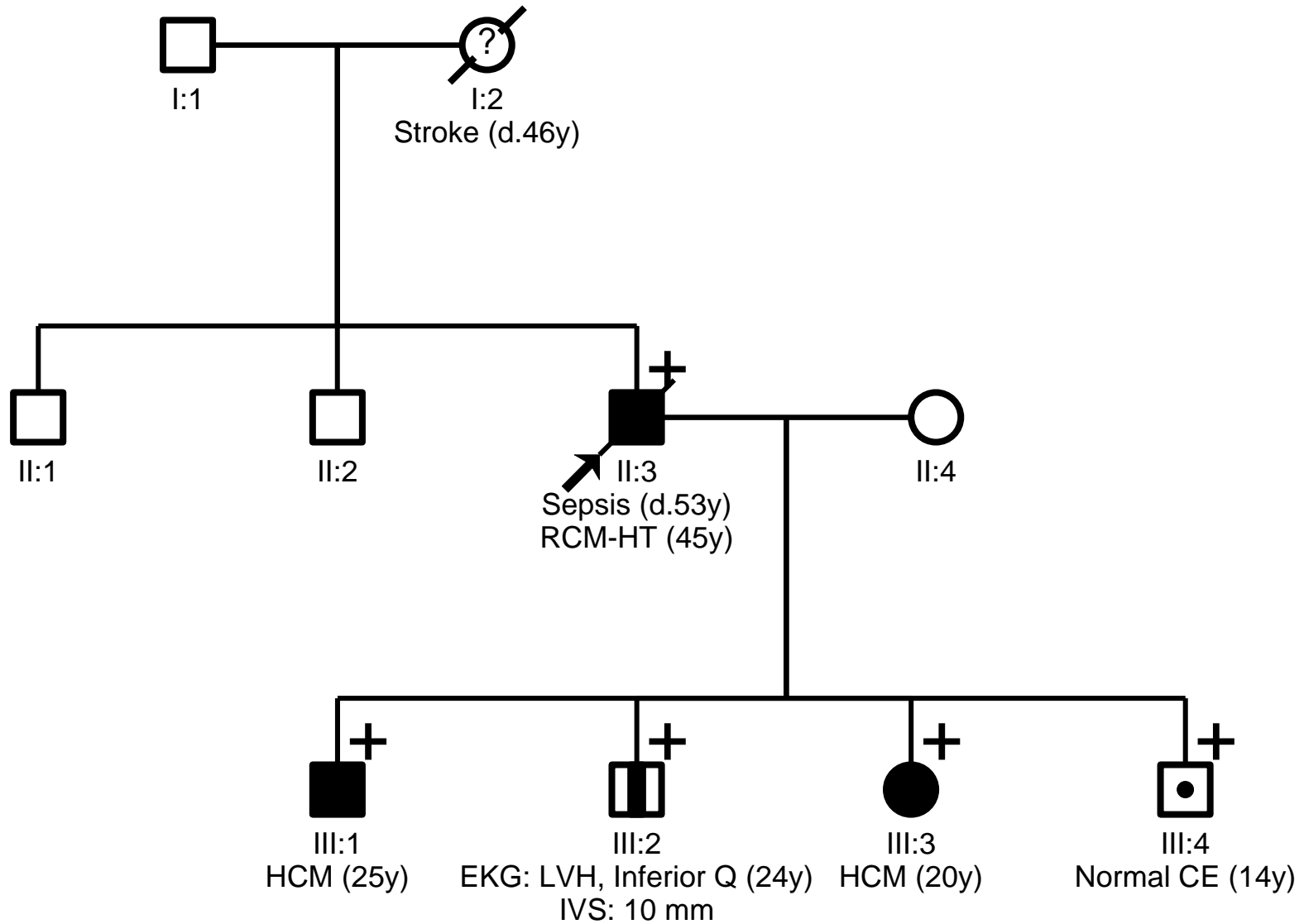
*MYBPC3*<sup>c.3709A>C</sup> (VSI), *TTN*<sup>c.36980G>A, c.54869G>A</sup> (VSI)





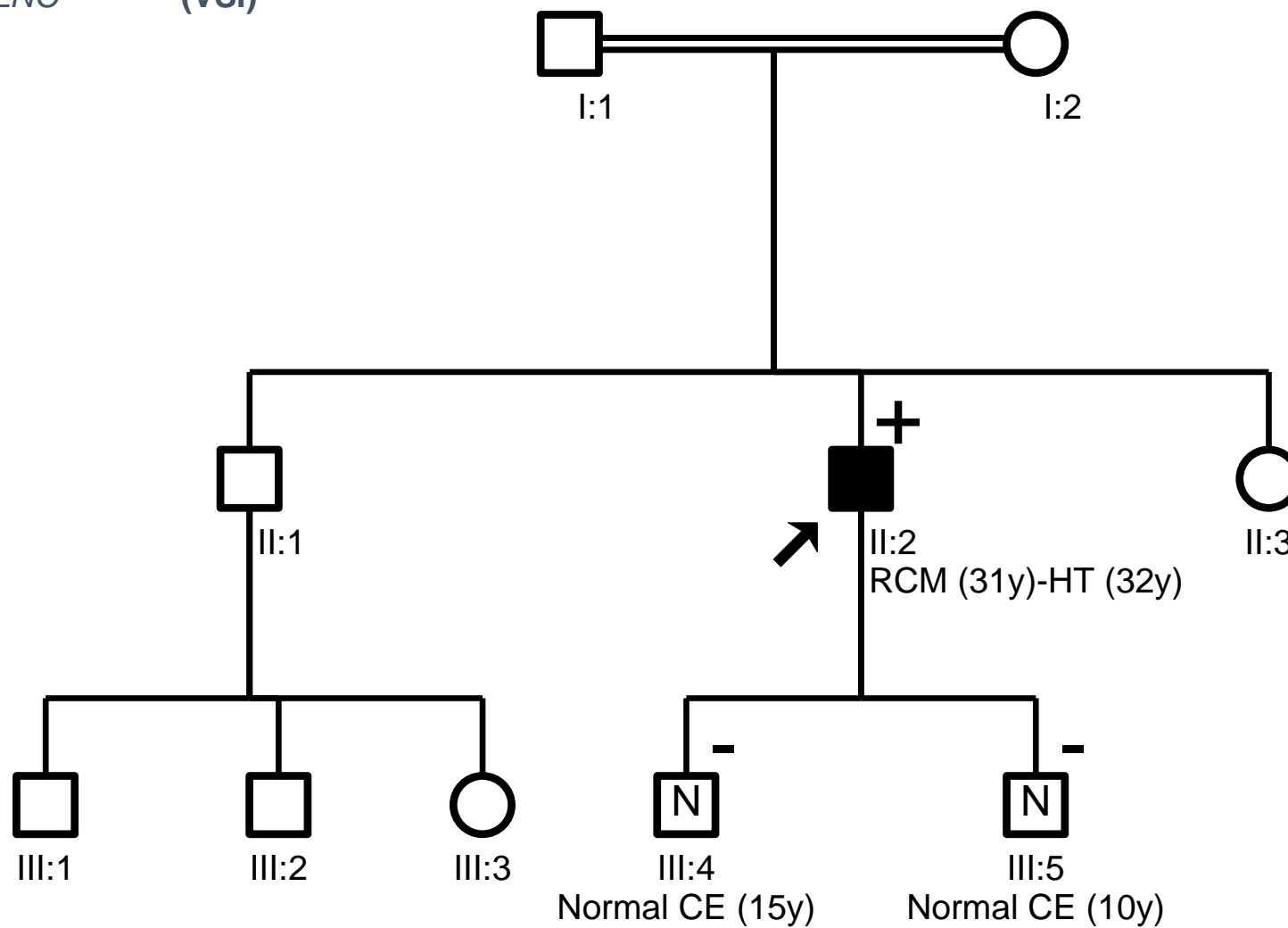
## Familia #12

*FLNC*<sup>c.6889G>A</sup> (P)



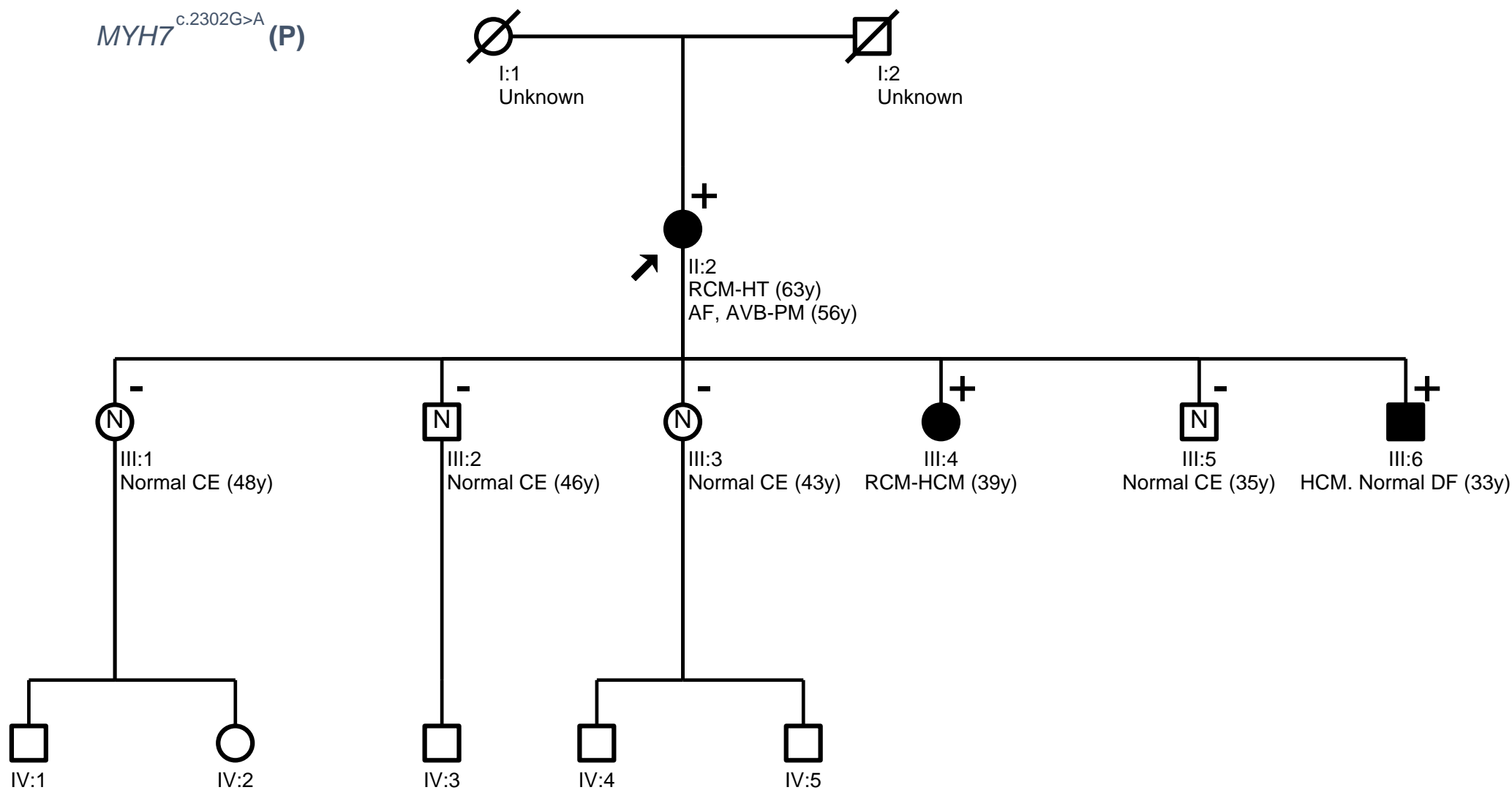
# Familia #13

*FLNC*<sup>c.7672G>A</sup> (VSI)



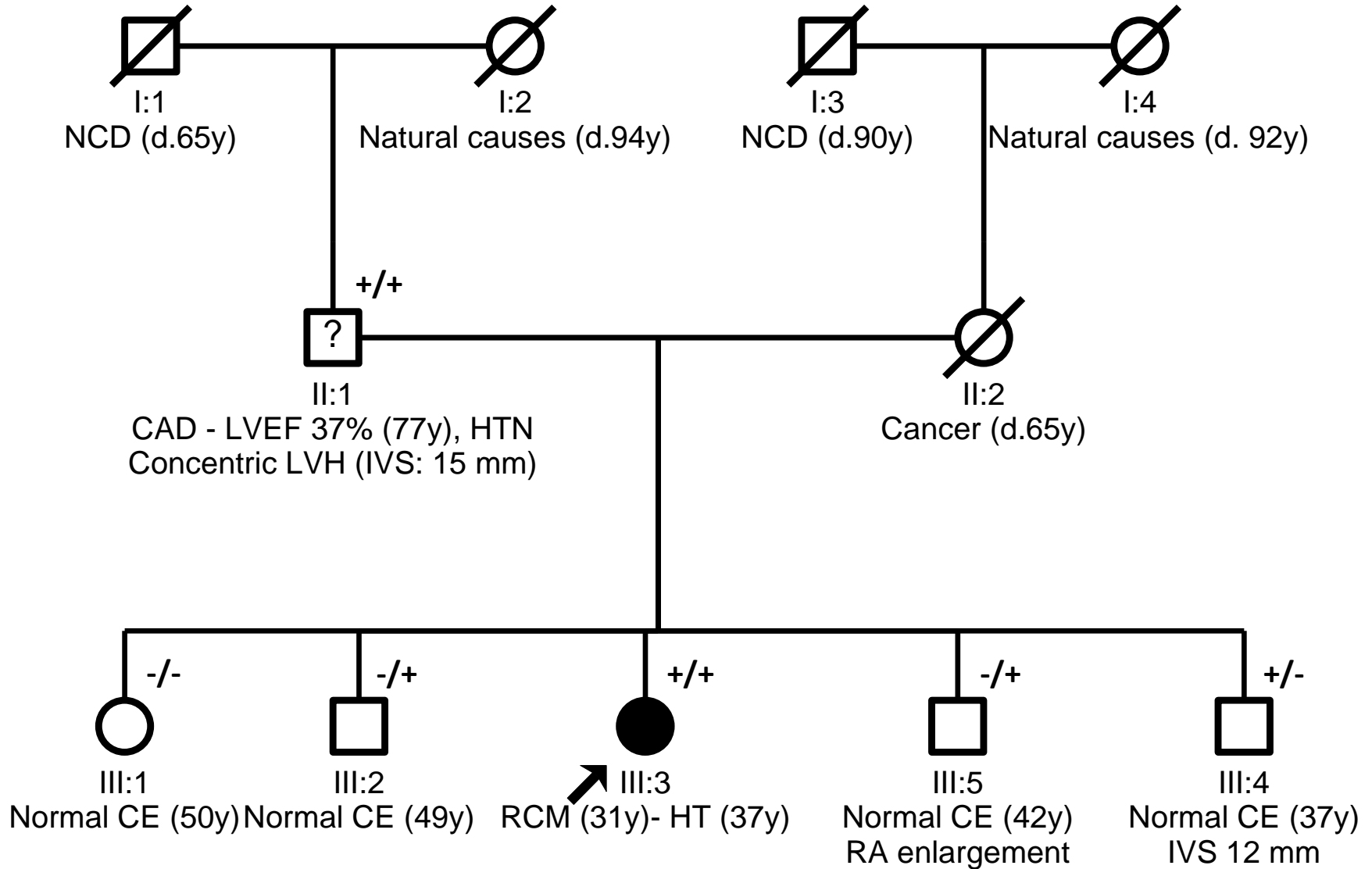
## Familia #14

*MYH7*<sup>c.2302G>A</sup> (P)



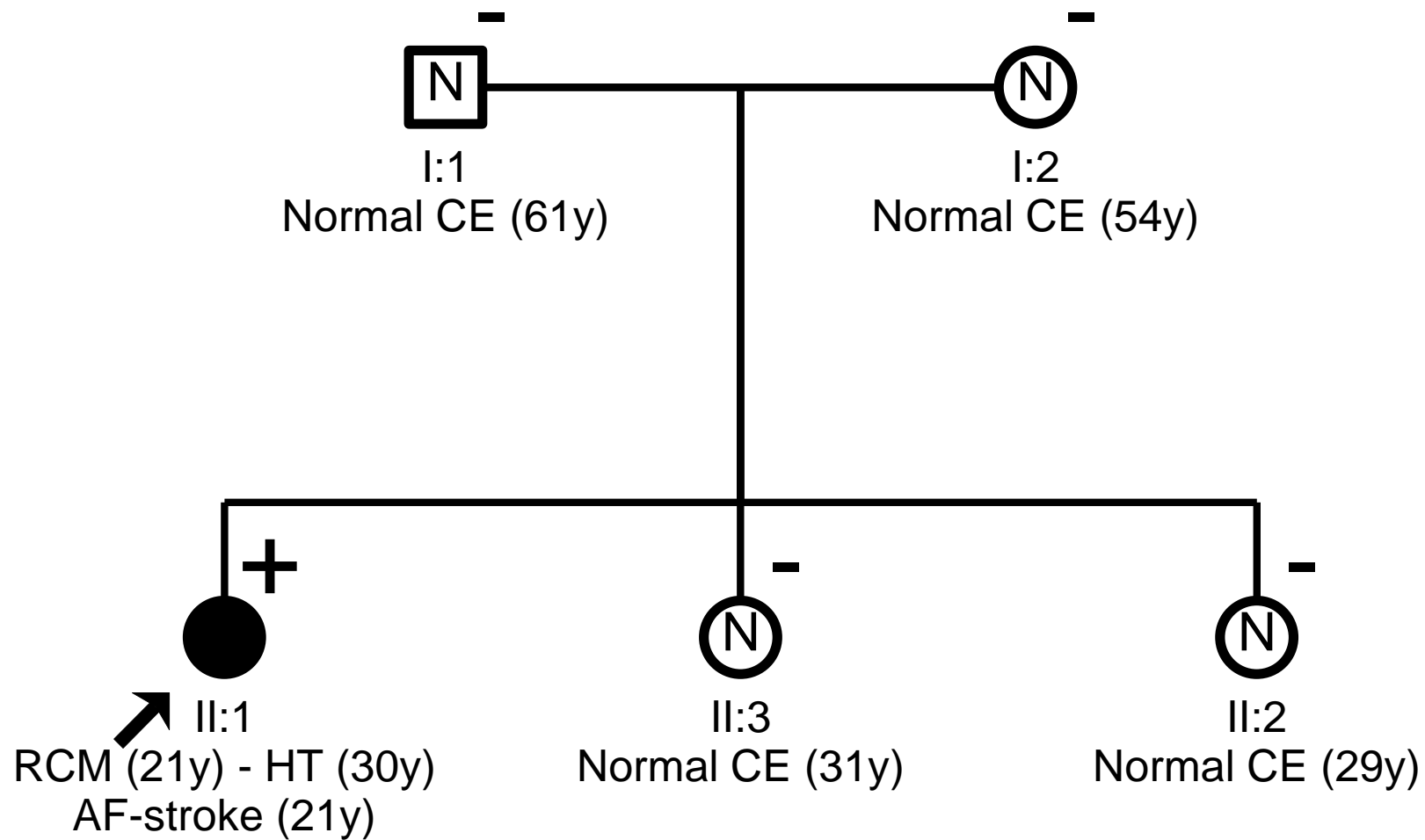
# Familia #15

*FHOD3*<sup>c.4178T>G</sup> (VSI), *FLNC*<sup>c.8131G>T</sup> (VSI)



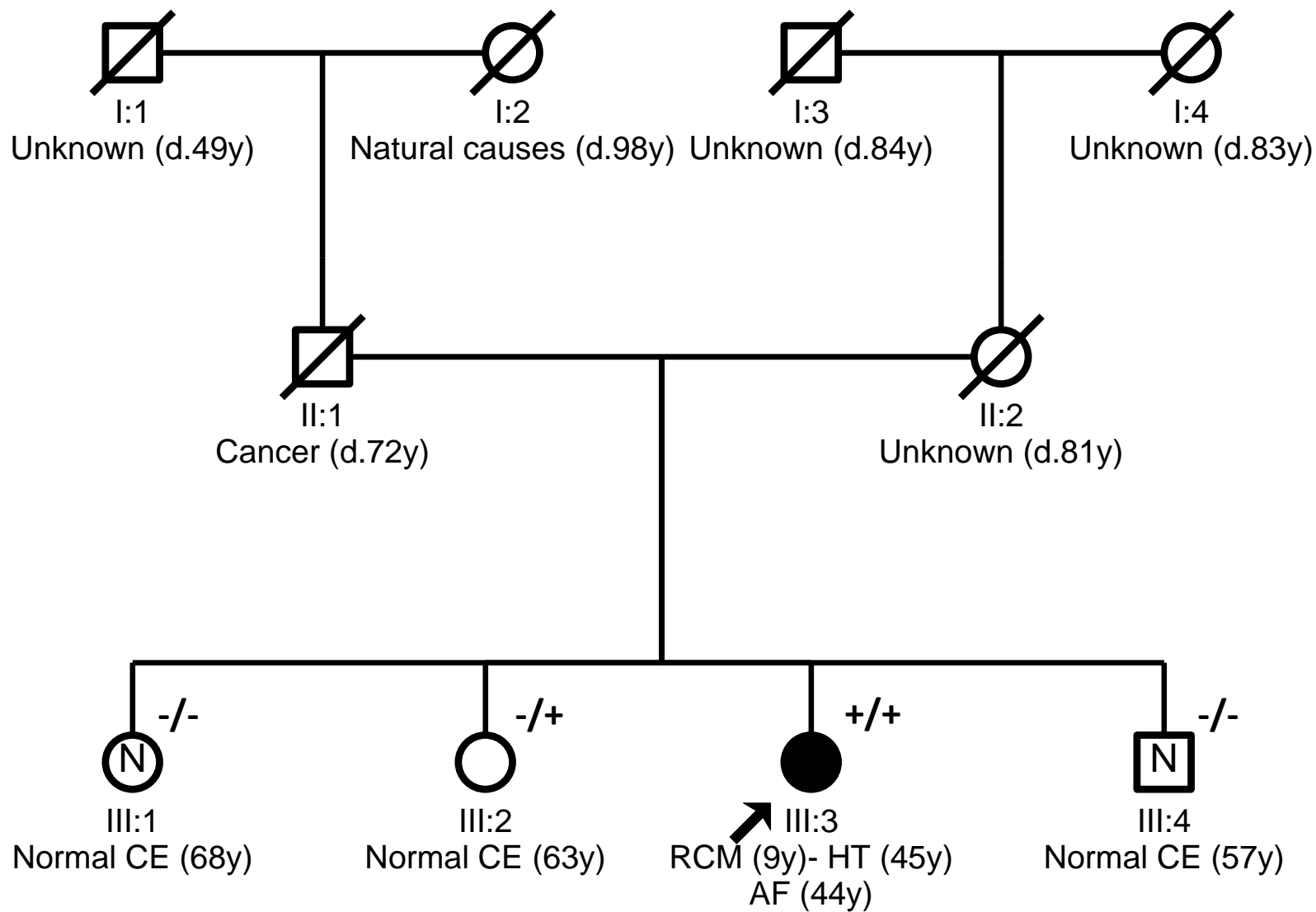
# Familia #16

*TNNI3*<sup>c.575G>A</sup> (P)



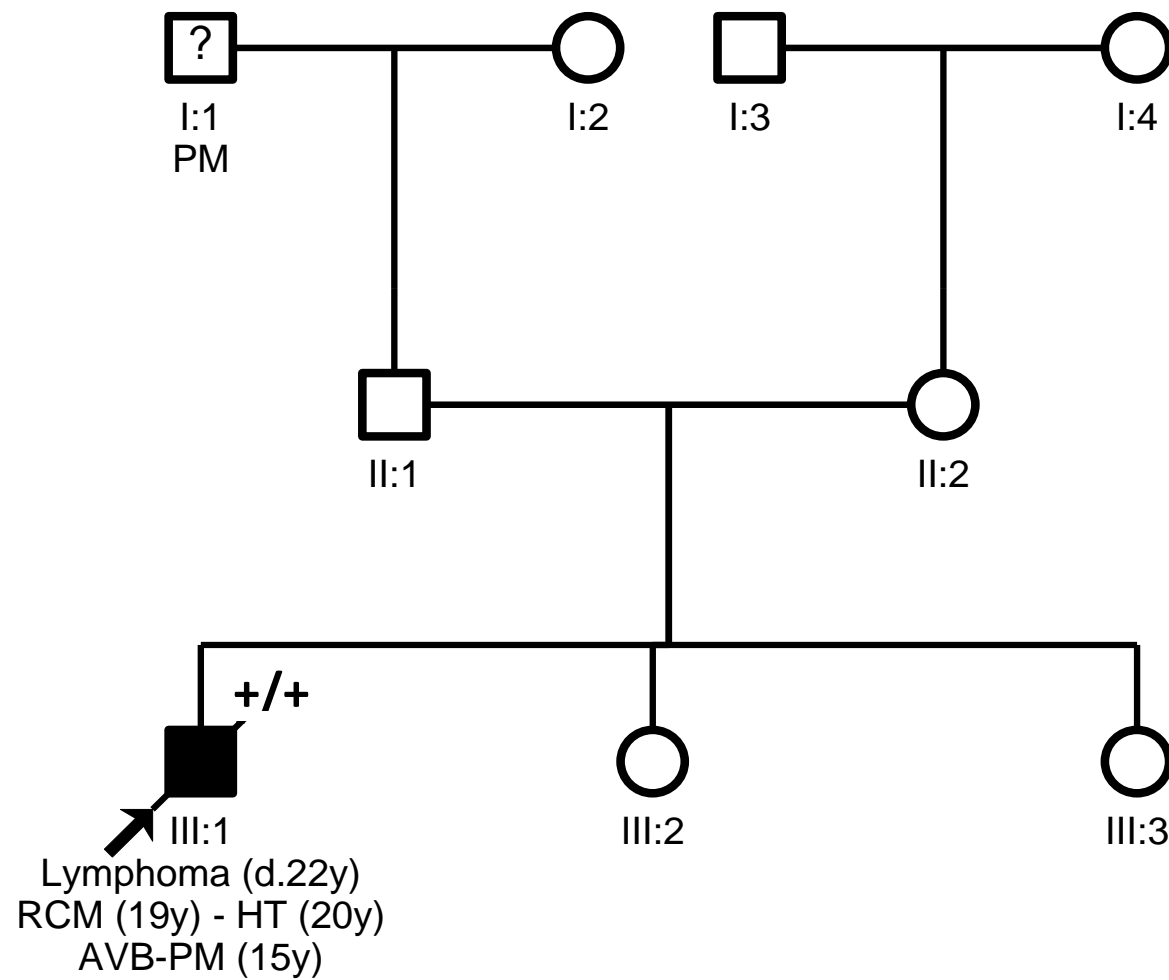
## Familia #17

*MYH7*<sup>c.2087A>G</sup> (P), *NEXN*<sup>c.979A>G</sup> (VSI)



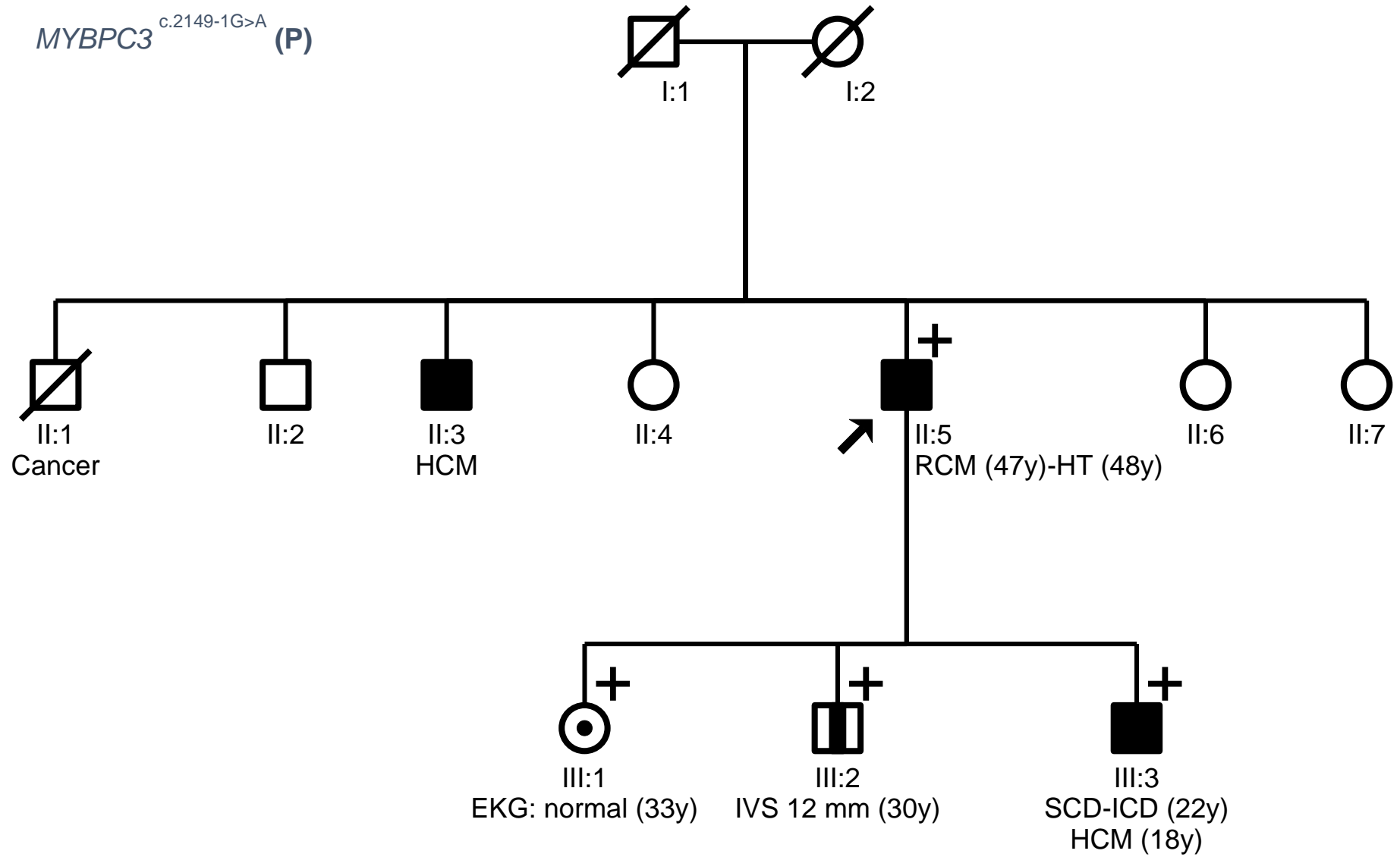
## Familia #18

*DES*<sup>c.1360C>T</sup> (P), *SCNA5*<sup>c.1333C>G</sup> (VUS)



**Familia #19**

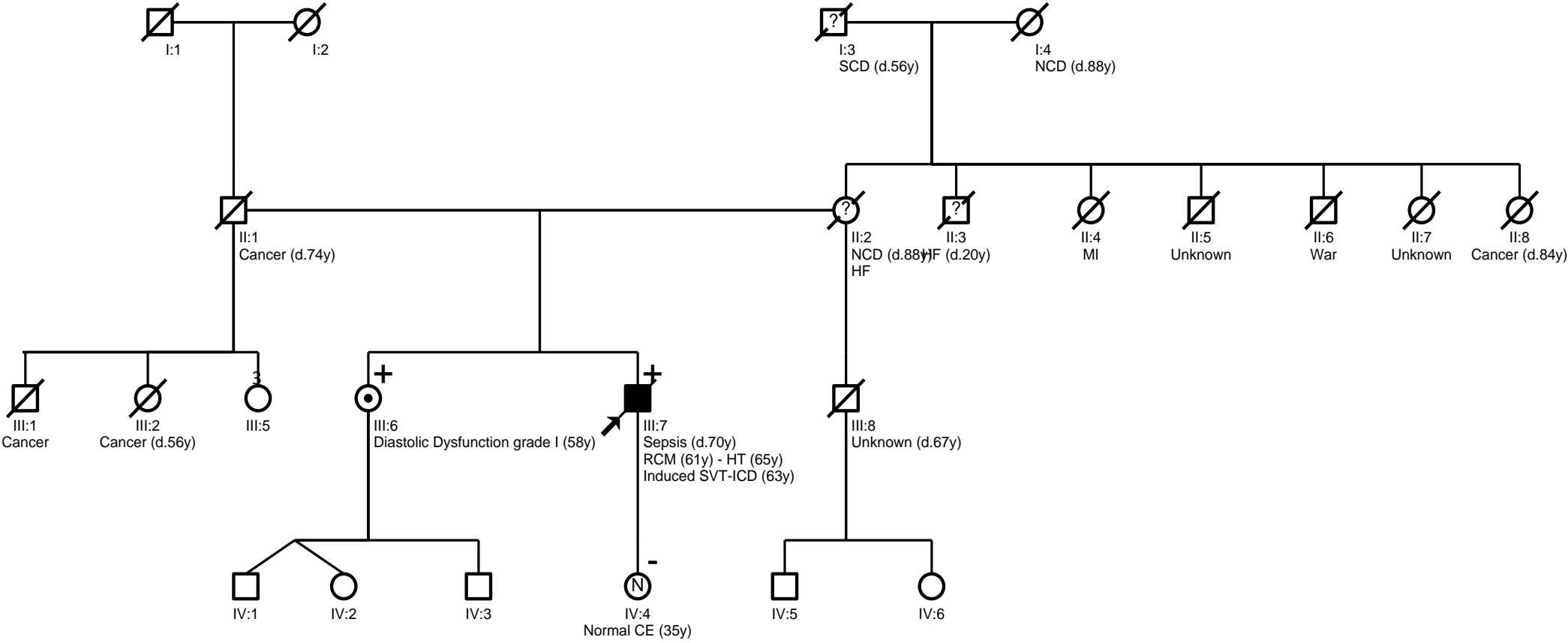
*MYBPC3*<sup>c.2149-1G>A</sup> (P)





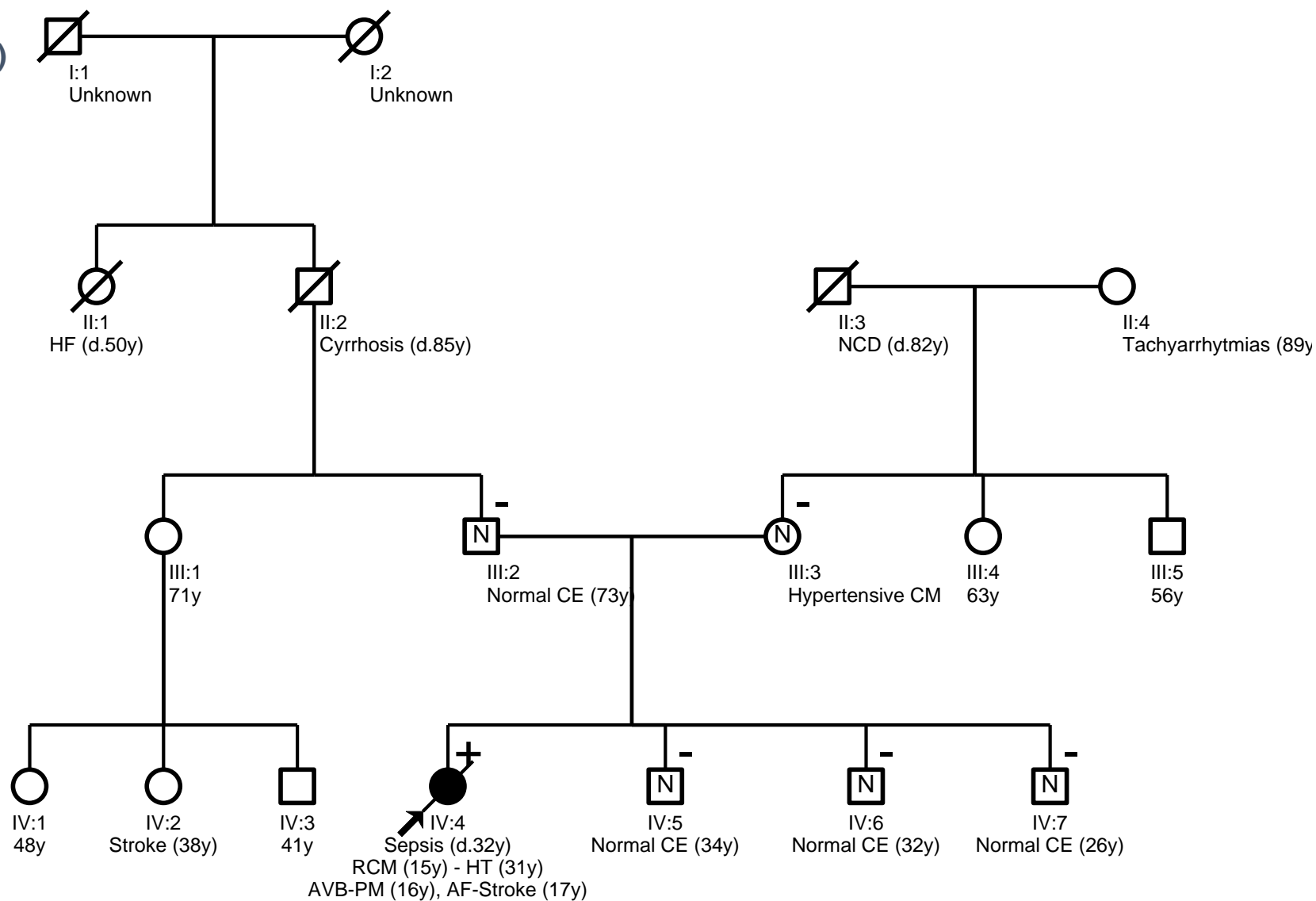
Familia #20

MYBPC3<sup>c.1457+2T>G</sup> (VSI)



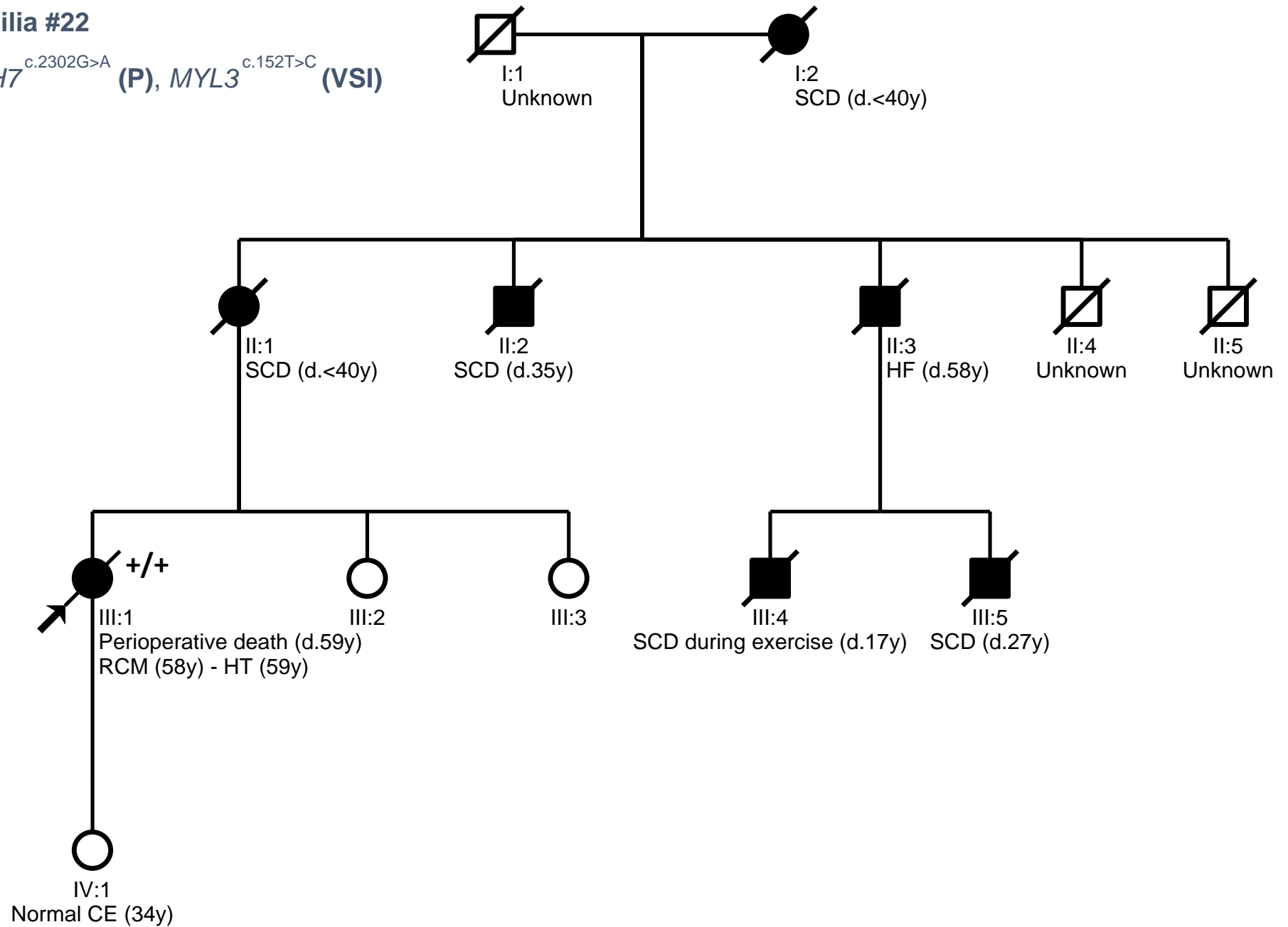
## Familia #21

*DES*<sup>c.1360C>T</sup> (P)



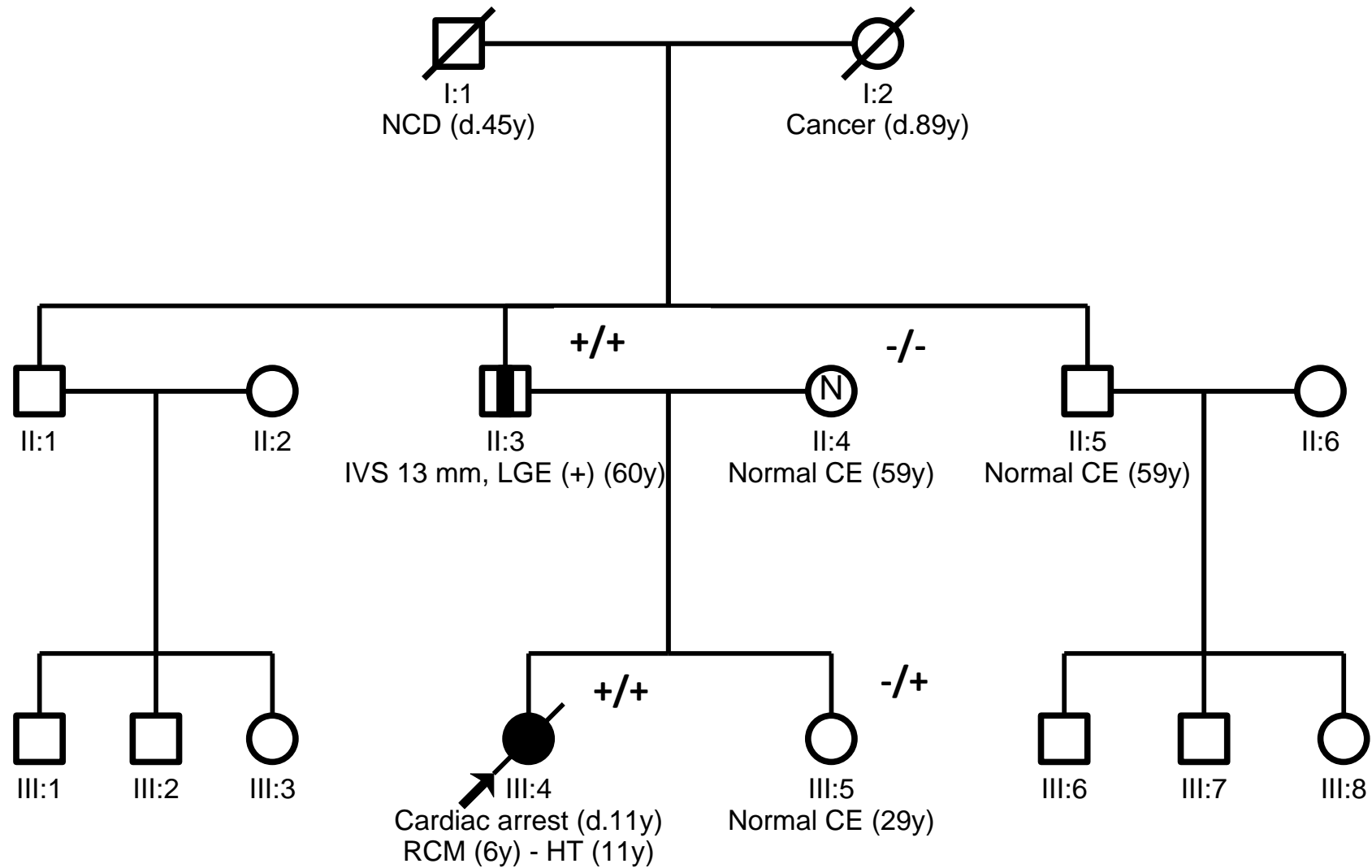
## Familia #22

*MYH7*<sup>c.2302G>A</sup> (P), *MYL3*<sup>c.152T>C</sup> (VSI)



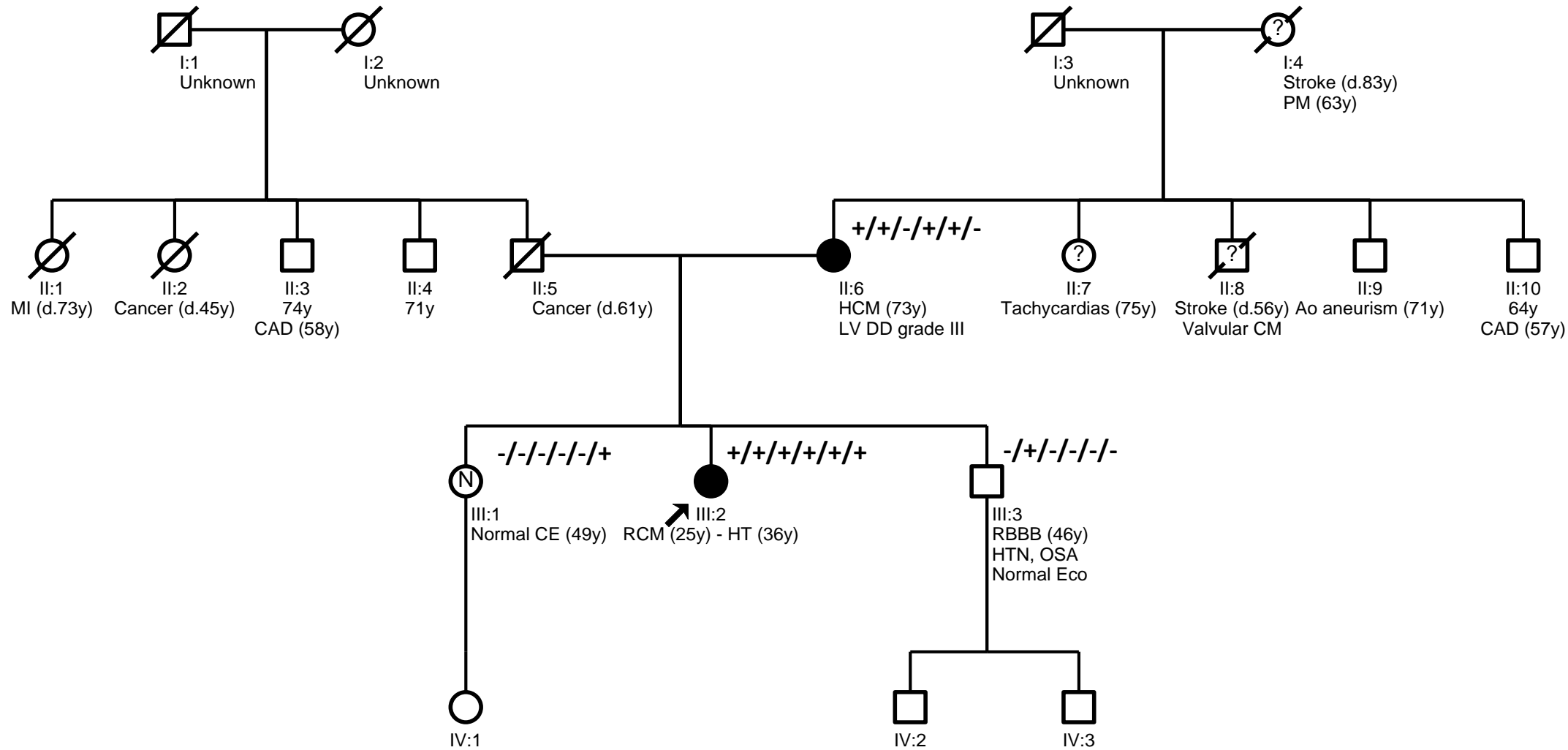
## Familia #23

*TNNT2*<sup>c.820\_821delGT</sup> (P), *PKP2*<sup>c.2084G>A</sup> (VSI)



## Familia #24

*TCAP*<sup>c.187C>T</sup> (P), *MYH6*<sup>c.1042G>A</sup> (VSI), *FLNC*<sup>c.4636G>A</sup> (NP), *TTN*<sup>c.4261A>G, c.22870A>C</sup> (VSI), *TTN*<sup>c.29747C>T</sup> (NP)

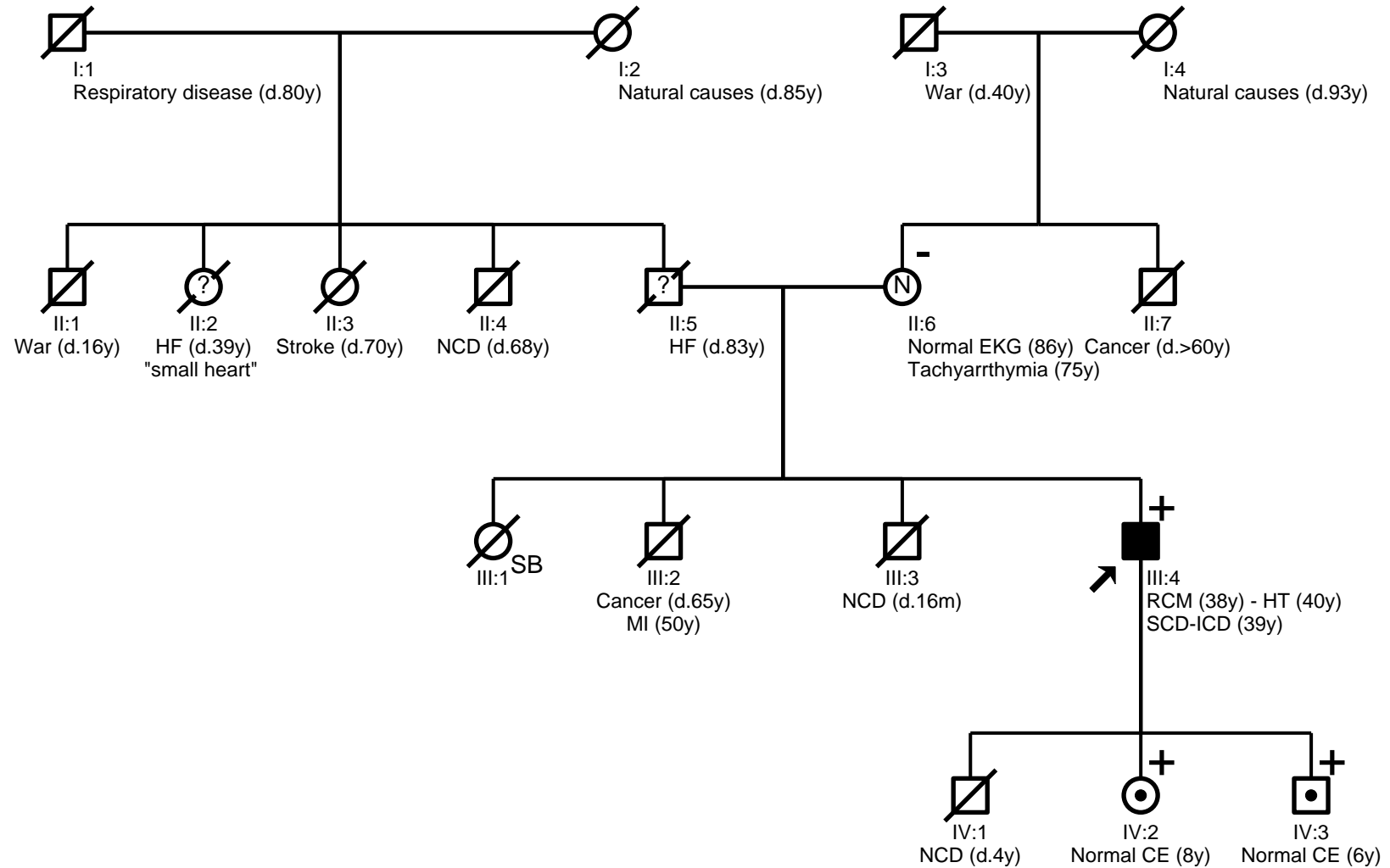


*FLNC*<sup>c.7630G>A</sup> (VSI), *FHOD3*<sup>c.4240C>T</sup> (VSI)



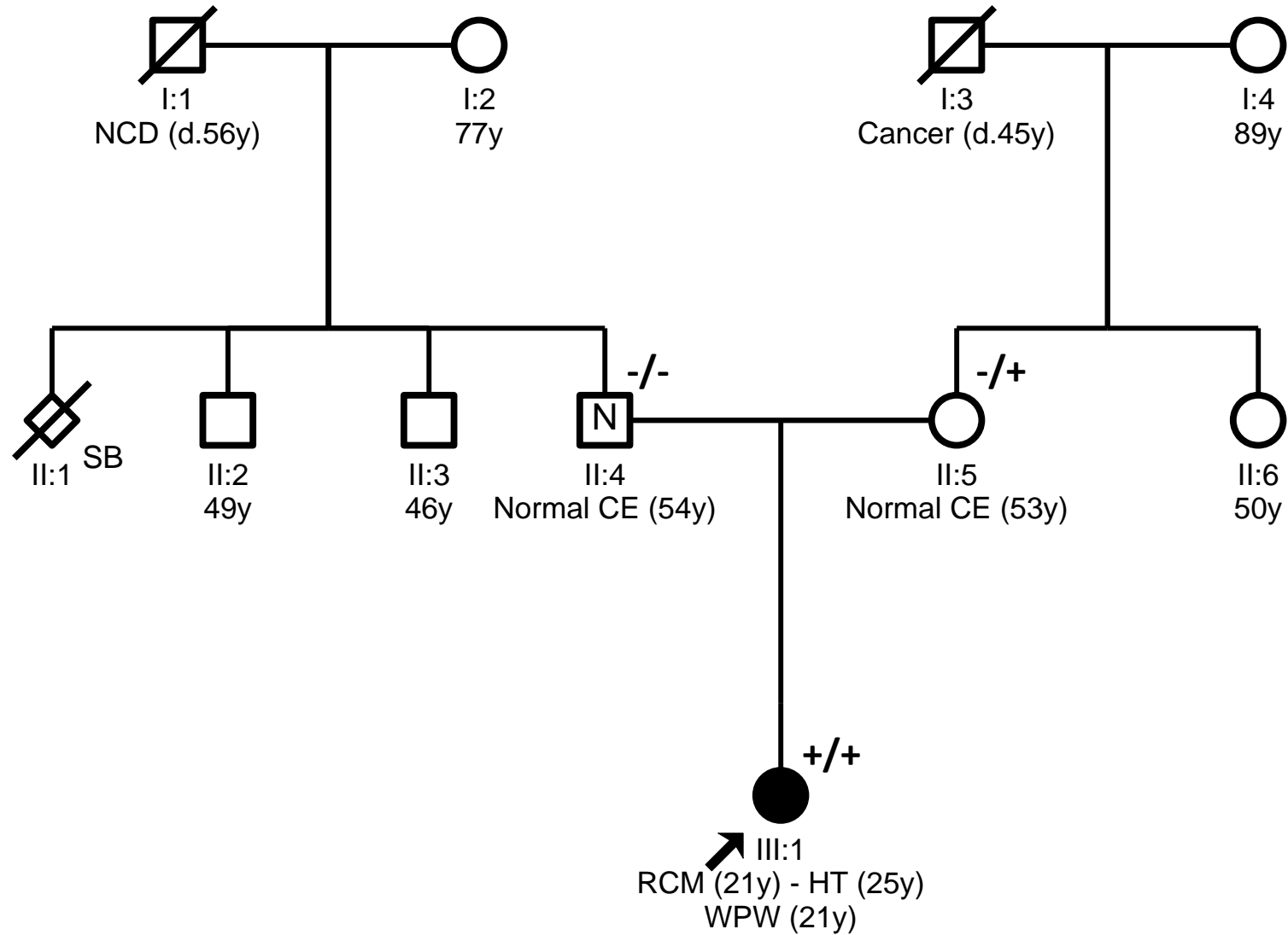
## Familia #26

*LMNA*<sup>c.1046\_1047delGGinsTT</sup> (P)



## Familia #27

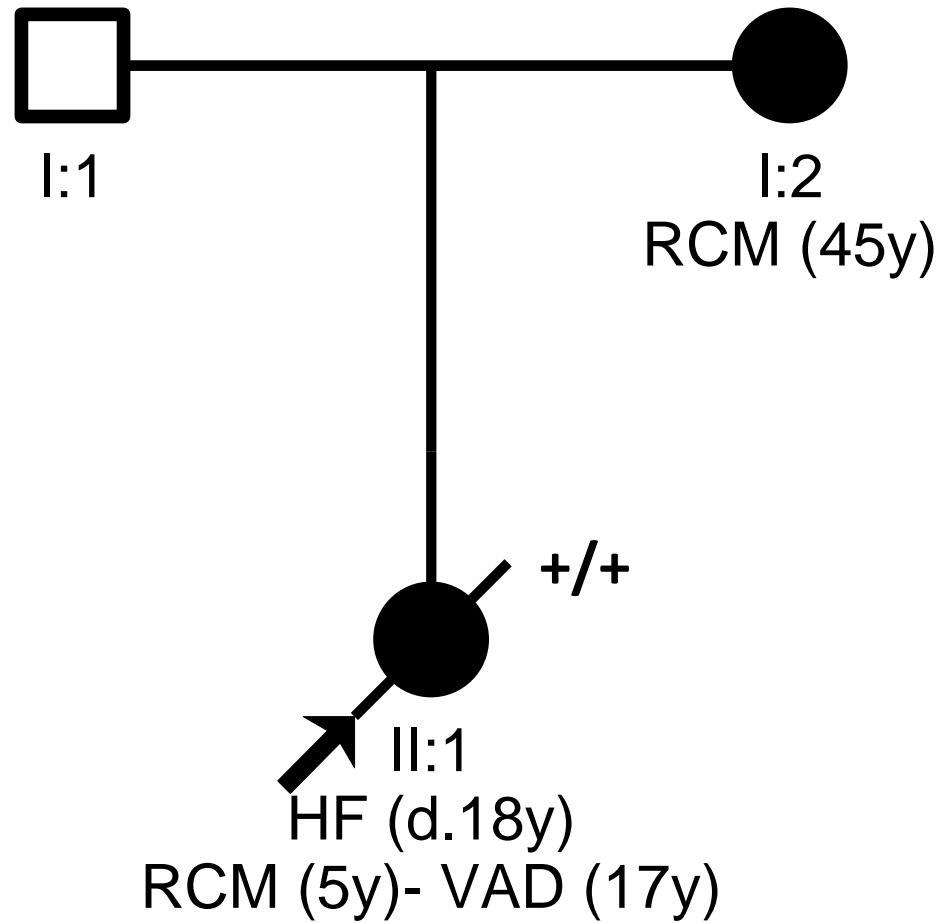
*LAMP2*<sup>c.520C>T</sup> (P), *SGCD*<sup>c.494G>A</sup> (VSI)





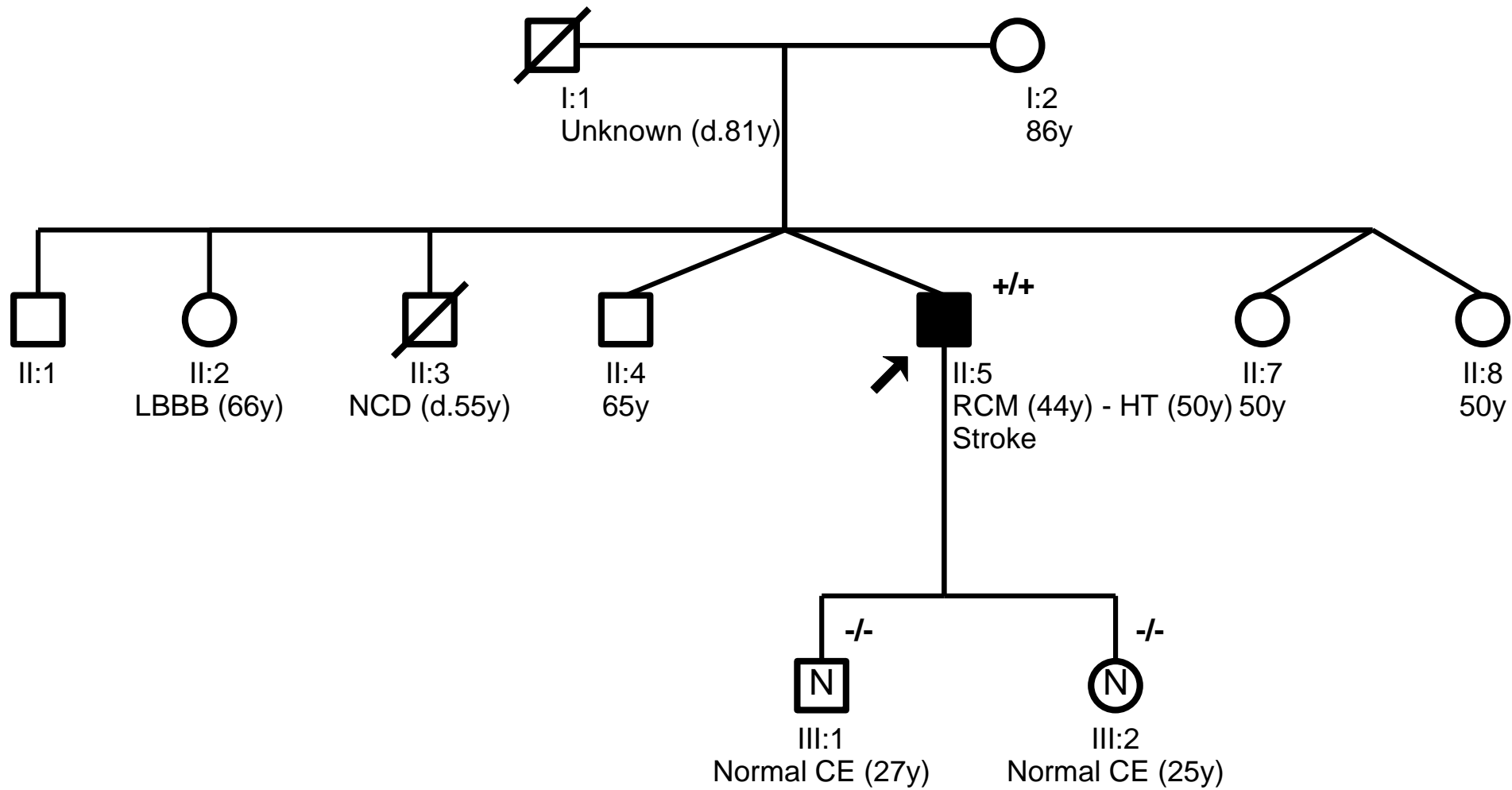
**Familia #28**

*MYBPC3*<sup>c.3742G>A</sup> (VSI), *ACTN2*<sup>c.641T>C</sup> (VSI)



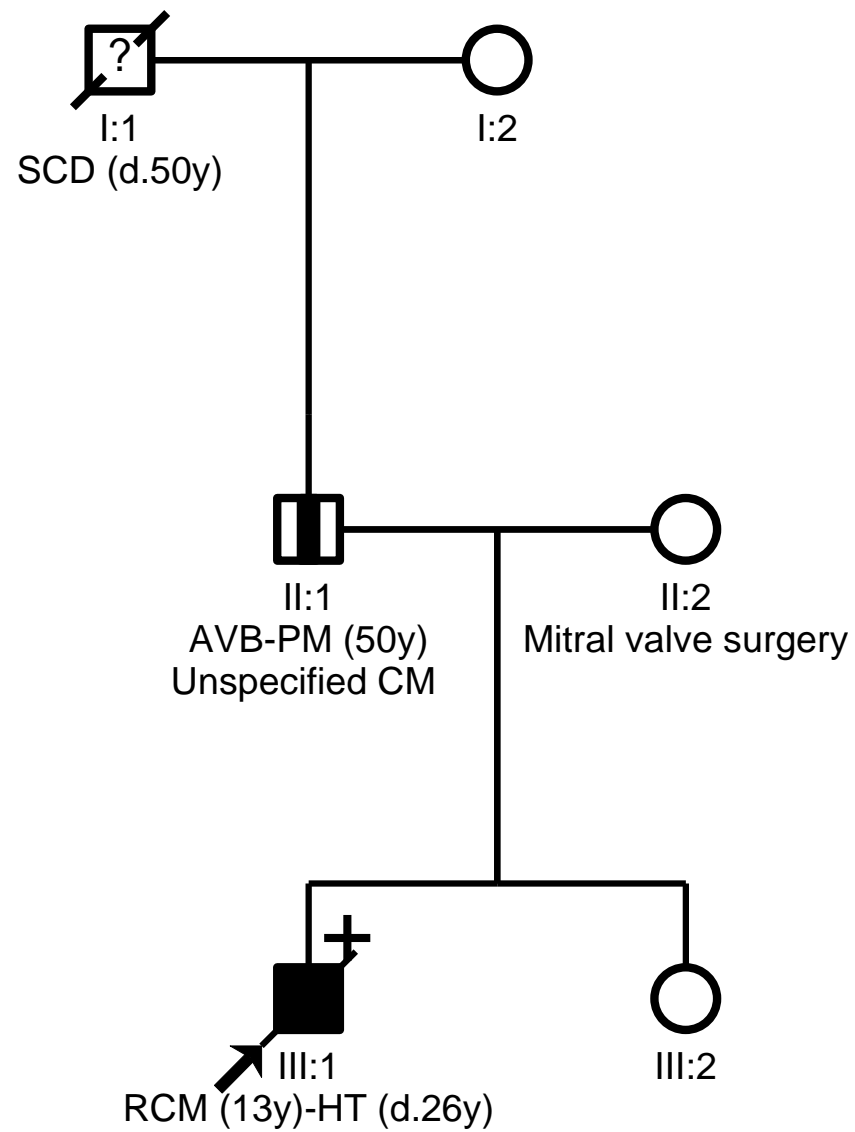
## Familia #29

*DES*<sup>c.3742G>A</sup> (VSI), *FLNC*<sup>c.3553G>A</sup> (VSI)



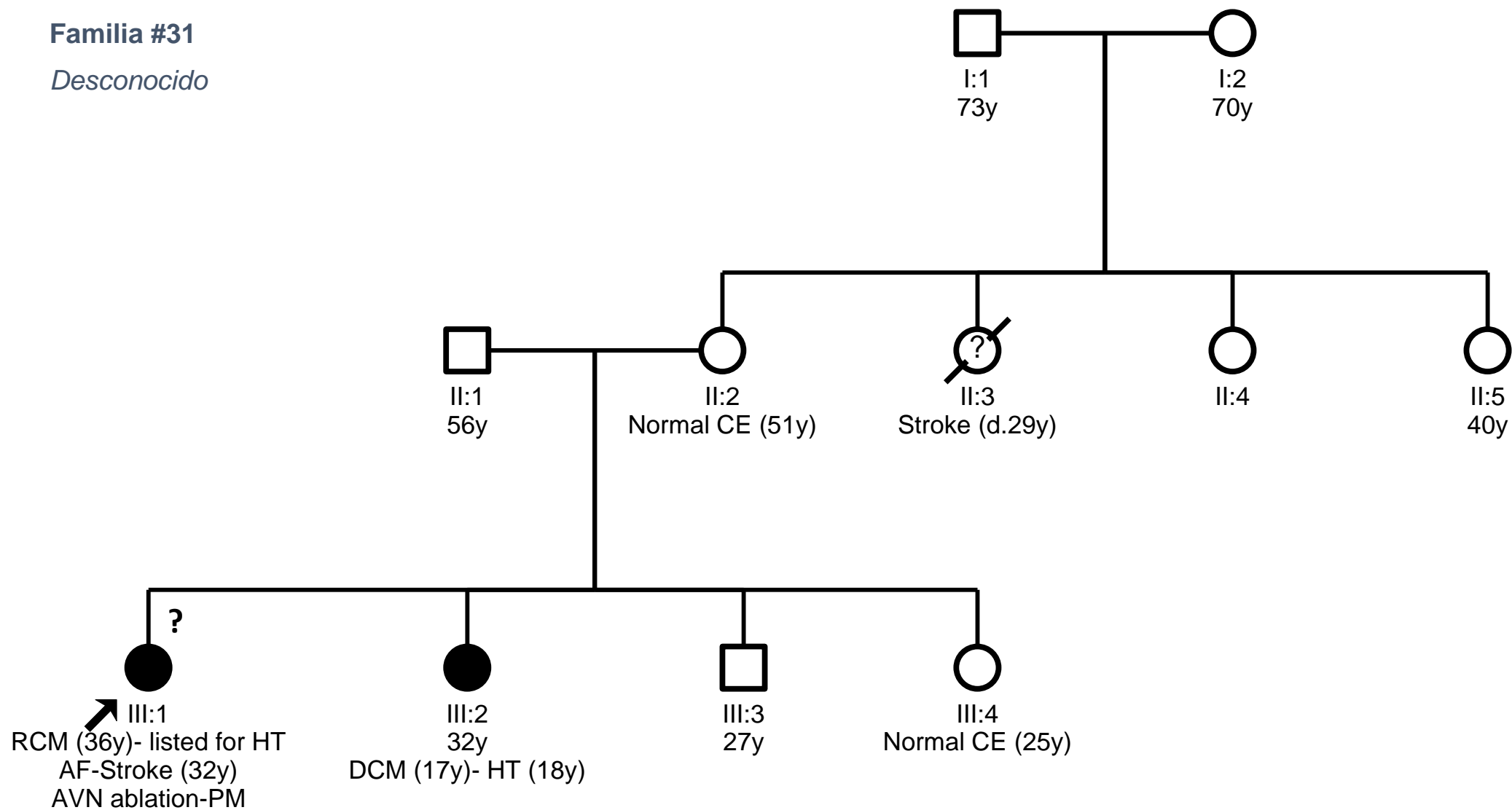
### Familia #30

*TTN*<sup>c.22768C>T</sup> (VSI)



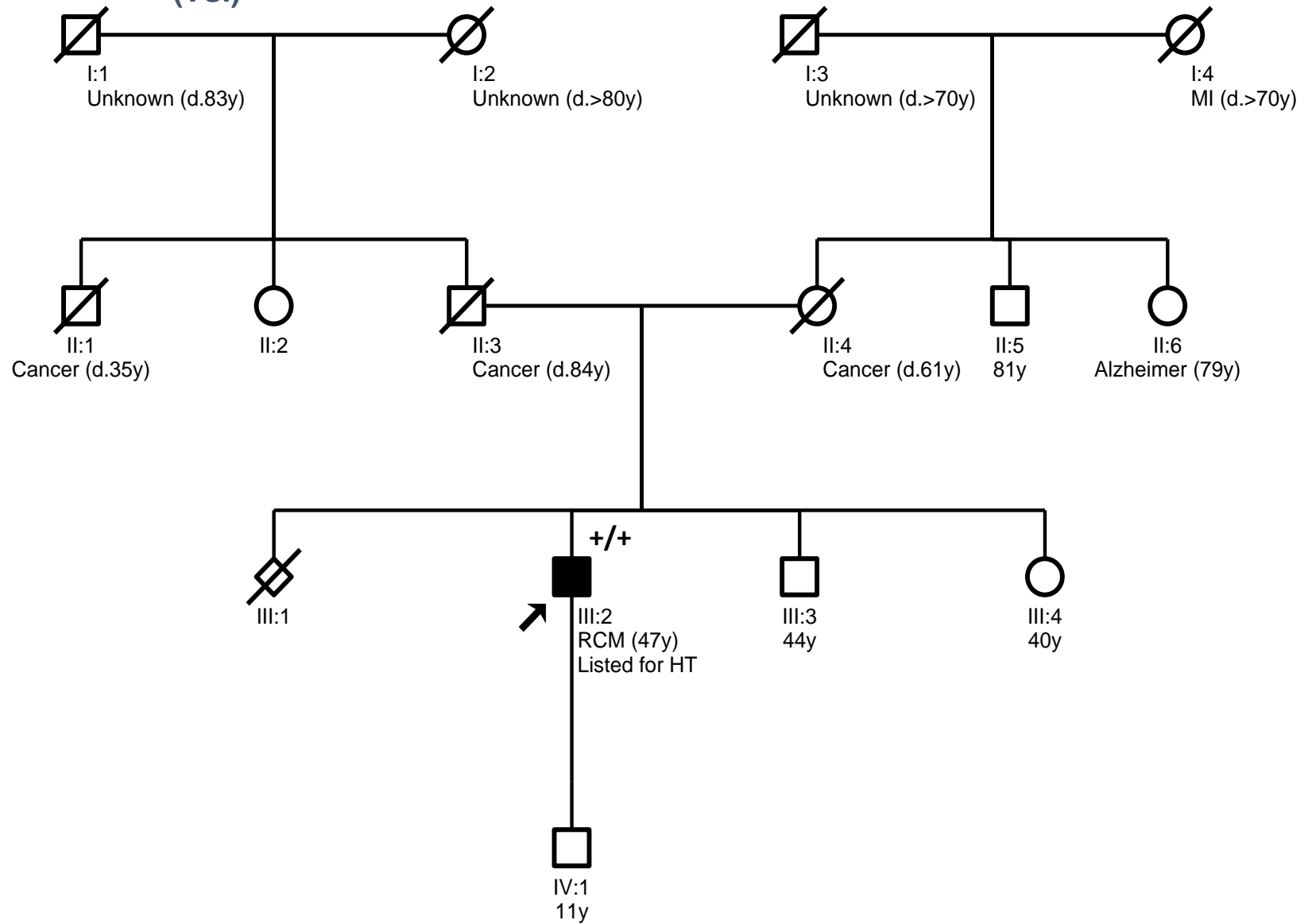
## Familia #31

*Desconocido*



## Familia #32

*TTN*<sup>c.38000C>T, c.37019C>T</sup> (VSI)



▪ Apéndice 2. Genes analizados

Gen	MIM	Localización	Gen	MIM	Localización
<b>ABCC9</b>	601439	Cromosoma 12, NC_000012.12 (21797389..21941863, complement)	<b>KCNE2</b>	603796	Cromosoma 21, NC_000021.9 (34364024..34371141)
<b>ACE</b>	106180	Cromosoma 17, NC_000017.11 (63477061..63498380)	<b>KCNE3</b>	604433	Cromosoma 11, NC_000011.10 (74454841..74467555, complement)
<b>ACE2</b>	300335	Cromosoma X, NC_000023.11 (15561033..15602069, complement)	<b>KCNE4</b>	607775	Cromosoma 2, NC_000002.12 (223051930..223055637)
<b>ACTA2</b>	102620	Cromosoma 10, NC_000010.11 (88935074..88991390, complement)	<b>KCNH2</b>	152427	Cromosoma 7, NC_000007.14 (150944956..150978329, complement)
<b>ACTC1</b>	102540	Cromosoma 15, NC_000015.10 (34788096..34795726, complement)	<b>KCNJ11</b>	600937	Cromosoma 11, NC_000011.10 (17385237..17389331, complement)
<b>ACTN2</b>	102573	Cromosoma 1, NC_000001.11 (236686454..236764631)	<b>KCNJ12</b>	602323	Cromosoma 17, NC_000017.11 (21376387..21419872)
<b>ACVRL1</b>	601284	Cromosoma 12, NC_000012.12 (51906913..51923361)	<b>KCNJ2</b>	600681	Cromosoma 17, NC_000017.11 (70169535..70180044)
<b>ADAMTSL4</b>	610113	Cromosoma 1, NC_000001.11 (150549369..150560937)	<b>KCNJ3</b>	601534	Cromosoma 2, NC_000002.12 (154698581..154858352)
<b>ADD1</b>	102680	Cromosoma 4, NC_000004.12 (2843727..2930076)	<b>KCNJ5</b>	600734	Cromosoma 11, NC_000011.10 (128891418..128921165)

<b>ADRA1A</b>	104221	Cromosoma 8, NC_000008.11 (26747938..26869486, complement)	<b>KCNJ8</b>	600935	Cromosoma 12, NC_000012.12 (21764955..21775566, complement)
<b>ADRA2A</b>	104210	Cromosoma 10, NC_000010.11 (111077032..111080907)	<b>KCNK3</b>	603220	Cromosoma 2, NC_000002.12 (26692713..26731198)
<b>ADRB1</b>	109630	Cromosoma 10, NC_000010.11 (114044047..114046908)	<b>KCNQ1</b>	607542	Cromosoma 11, NC_000011.10 (2444991..2849110)
<b>ADRB2</b>	109690	Cromosoma 5, NC_000005.10 (148826593..148828634)	<b>KCNQ2</b>	602235	Cromosoma 20, NC_000020.11 (63400208..63472640, complement)
<b>ADRB3</b>	109691	Cromosoma 8, NC_000008.11 (37962995..37966666, complement)	<b>KLF10</b>	601878	Cromosoma 8, NC_000008.11 (102648777..102655902, complement)
<b>AGL</b>	610860	Cromosoma 1, NC_000001.11 (99850077..99924023)	<b>KRAS</b>	190070	Cromosoma 12, NC_000012.12 (25205246..25250923, complement)
<b>AGT</b>	106150	Cromosoma 1, NC_000001.11 (230702523..230714590, complement)	<b>LAMA2</b>	156225	Cromosoma 6, NC_000006.12 (128883141..129516566)
<b>AGTR1</b>	106165	Cromosoma 3, NC_000003.12 (148697871..148743003)	<b>LAMA4</b>	600133	Cromosoma 6, NC_000006.12 (112107931..112254722, complement)
<b>AGTR2</b>	300034	Cromosoma X, NC_000023.11 (116170705..116174972)	<b>LAMP2</b>	309060	Cromosoma X, NC_000023.11 (120426148..120469349, complement)
<b>AKAP9</b>	604001	Cromosoma 7, NC_000007.14 (91940867..92110673)	<b>LDB3</b>	605906	Cromosoma 10, NC_000010.11 (86666717..86736072)
<b>ALMS1</b>	606844	Cromosoma 2, NC_000002.12 (73385758..73609919)	<b>LDLR</b>	606945	Cromosoma 19, NC_000019.10 (11089362..11133830)
<b>ANK2</b>	106410	Cromosoma 4, NC_000004.12 (112818083..113383740)	<b>LMNA</b>	150330	Cromosoma 1, NC_000001.11 (156082546..156140089)

<b>ANK3</b>	600465	Cromosoma 10, NC_000010.11 (60026298..60733526, complement)	<b>LRP6</b>	603507	Cromosoma 12, NC_000012.12 (12116025..12266877, complement)
<b>ANKRD1</b>	609599	Cromosoma 10, NC_000010.11 (90912100..90921275, complement)	<b>MAP2K1</b>	176872	Cromosoma 15, NC_000015.10 (66386844..66491544)
<b>APOB</b>	107730	Cromosoma 2, NC_000002.12 (21001429..21044073, complement)	<b>MAP2K2</b>	601263	Cromosoma 19, NC_000019.10 (4090321..4124189, complement)
<b>APOE</b>	107741	Cromosoma 19, NC_000019.10 (44905782..44909393)	<b>MEF2A</b>	600660	Cromosoma 15, NC_000015.10 (99565583..99716483)
<b>ASPH</b>	600582	Cromosoma 8, NC_000008.11 (61500556..61714640, complement)	<b>MIB1</b>	608677	Cromosoma 18, NC_000018.10 (21741329..21870957)
<b>ATP2A2</b>	108740	Cromosoma 12, NC_000012.12 (110281227..110351093)	<b>MSTN</b>	601788	Cromosoma 2, NC_000002.12 (190055700..190062729, complement)
<b>BAG3</b>	603883	Cromosoma 10, NC_000010.11 (119651347..119677819)	<b>MURC</b>		Cromosoma 9, NC_000009.12 (100578079..100588389)
<b>BDKRB2</b>	113503	Cromosoma 14, NC_000014.9 (96204798..96244329)	<b>MYBPC3</b>	600958	Cromosoma 11, NC_000011.10 (47331406..47352702, complement)
<b>BMP10</b>	608748	Cromosoma 2, NC_000002.12 (68865481..68871517, complement)	<b>MYH11</b>	160745	Cromosoma 16, NC_000016.10 (15703135..15857030, complement)
<b>BMPR1B</b>	603248	Cromosoma 4, NC_000004.12 (94757977..95158450)	<b>MYH6</b>	160710	Cromosoma 14, NC_000014.9 (23380733..23409622, complement)
<b>BMPR2</b>	600799	Cromosoma 2, NC_000002.12 (202376327..202567751)	<b>MYH7</b>	160760	Cromosoma 14, NC_000014.9 (23412738..23435661, complement)
<b>BRAF</b>	164757	Cromosoma 7, NC_000007.14 (140719334..140924764, complement)	<b>MYL2</b>	160781	Cromosoma 12, NC_000012.12 (110910819..110920600, complement)



<b>CACNA1B</b>	601012	Cromosoma 9, NC_000009.12 (137877789..138124624)	<b>MYL3</b>	160790	Cromosoma 3, NC_000003.12 (46857867..46863483, complement)
<b>CACNA1C</b>	114205	Cromosoma 12, NC_000012.12 (1970786..2697949)	<b>MYLK</b>	600922	Cromosoma 3, NC_000003.12 (123612296..123884302, complement)
<b>CACNA1D</b>	114206	Cromosoma 3, NC_000003.12 (53495049..53813152)	<b>MYLK2</b>	600922	Cromosoma 3, NC_000003.12 (123612296..123884302, complement)
<b>CACNA2D1</b>	114204	Cromosoma 7, NC_000007.14 (81946444..82443715, complement)	<b>MYOCD</b>	606127	Cromosoma 17, NC_000017.11 (12665890..12768949)
<b>CACNB2</b>	600003	Cromosoma 10, NC_000010.11 (18140677..18541759)	<b>MYOT</b>	604103	Cromosoma 5, NC_000005.10 (137867847..137887851)
<b>CALM1</b>	114180	Cromosoma 14, NC_000014.9 (90396983..90408275)	<b>MYOZ2</b>	605602	Cromosoma 4, NC_000004.12 (119135784..119187789)
<b>CALM2</b>	114182	Cromosoma 2, NC_000002.12 (47160082..47176601, complement)	<b>MYPN</b>	608517	Cromosoma 10, NC_000010.11 (68106117..68212017)
<b>CALR3</b>	611414	Cromosoma 19, NC_000019.10 (16479057..16496192, complement)	<b>NBR1</b>	166945	Cromosoma 17, NC_000017.11 (43170481..43211688)
<b>CAMK2D</b>	607708	Cromosoma 4, NC_000004.12 (113451032..113761927, complement)	<b>NEBL</b>	605491	Cromosoma 10, NC_000010.11 (20779971..21174187, complement)
<b>CAPN3</b>	114240	Cromosoma 15, NC_000015.10 (42359500..42412317)	<b>NEXN</b>	613121	Cromosoma 1, NC_000001.11 (77888515..77946324)
<b>CASQ2</b>	114251	Cromosoma 1, NC_000001.11 (115700003..115768805, complement)	<b>NKX2-5</b>	600584	Cromosoma 5, NC_000005.10 (173232104..173235312, complement)
<b>CAV1</b>	601047	Cromosoma 7, NC_000007.14 (116524785..116561185)	<b>NOS1AP</b>	605551	Cromosoma 1, NC_000001.11 (162069791..162370023)

<b>CAV3</b>	601253	Cromosoma 3, NC_000003.12 (8733800..8746765)	<b>NOS3</b>	163729	Cromosoma 7, NC_000007.14 (150991056..151014944)
<b>CBL</b>	165360	Cromosoma 11, NC_000011.10 (119206276..119308149)	<b>NOTCH1</b>	190198	Cromosoma 9, NC_000009.12 (136494444..136545786, complement)
<b>CBS</b>	613381	Cromosoma 21, NC_000021.9 (43053191..43076362, complement)	<b>NPPA</b>	108780	Cromosoma 1, NC_000001.11 (11845709..11847783, complement)
<b>CFTR</b>	602421	Cromosoma 7, NC_000007.14 (117470772..117668665)	<b>NRAS</b>	164790	Cromosoma 1, NC_000001.11 (114704464..114716894, complement)
<b>CHST14</b>	608429	Cromosoma 15, NC_000015.10 (40470961..40473158)	<b>OBSL1</b>	610991	Cromosoma 2, NC_000002.12 (219550728..219571609, complement)
<b>CLIC2</b>	300138	Cromosoma X, NC_000023.11 (155276207..155334681, complement)	<b>PCSK9</b>	607786	Cromosoma 1, NC_000001.11 (55039476..55064853)
<b>CMA1</b>	118938	Cromosoma 14, NC_000014.9 (24505506..24508265, complement)	<b>PDLIM3</b>	605889	Cromosoma 4, NC_000004.12 (185500660..185535558, complement)
<b>CMYA5</b>	612193	Cromosoma 5, NC_000005.10 (79689836..79800226)	<b>PITX2</b>	601542	Cromosoma 4, NC_000004.12 (110617423..110642123, complement)
<b>CNBP</b>	116955	Cromosoma 3, NC_000003.12 (129167815..129183967, complement)	<b>PKP2</b>	602861	Cromosoma 12, NC_000012.12 (32790746..32896846, complement)
<b>COG2</b>	606974	Cromosoma 1, NC_000001.11 (230642456..230693985)	<b>PKP4</b>	604276	Cromosoma 2, NC_000002.12 (158456964..158681429)
<b>COL10A1</b>	120110	Cromosoma 6, NC_000006.12 (116118909..116158989, complement)	<b>PLEC</b>	601282	Cromosoma 8, NC_000008.11 (143915147..143976745, complement)
<b>COL1A1</b>	120150	Cromosoma 17, NC_000017.11 (50184096..50201642, complement)	<b>PLN</b>	172405	Cromosoma 6, NC_000006.12 (118548279..118560424)

<b>COL1A2</b>	120160	Cromosoma 7, NC_000007.14 (94394561..94431232)	<b>PLOD1</b>	153454	Cromosoma 1, NC_000001.11 (11934667..11975542)
<b>COL3A1</b>	120180	Cromosoma 2, NC_000002.12 (188974373..189012746)	<b>PNN</b>	603154	Cromosoma 14, NC_000014.9 (39175183..39183218)
<b>COL4A1</b>	120130	Cromosoma 13, NC_000013.11 (110148963..110307149, complement)	<b>PPARD</b>	600409	Cromosoma 6, NC_000006.12 (35342558..35428191)
<b>COL4A3</b>	120070	Cromosoma 2, NC_000002.12 (227164565..227314792)	<b>PPARGC1A</b>	604517	Cromosoma 4, NC_000004.12 (23792021..24091635, complement)
<b>COL4A4</b>	120131	Cromosoma 2, NC_000002.12 (226968916..227164559, complement)	<b>PRKAG2</b>	602743	Cromosoma 7, NC_000007.14 (151556114..151877231, complement)
<b>COL4A5</b>	303630	Cromosoma X, NC_000023.11 (108439771..108697545)	<b>PSEN1</b>	104311	Cromosoma 14, NC_000014.9 (73136435..73223691)
<b>COL5A1</b>	120215	Cromosoma 9, NC_000009.12 (134641805..134844843)	<b>PSEN2</b>	600759	Cromosoma 1, NC_000001.11 (226870572..226896103)
<b>COL5A2</b>	120190	Cromosoma 2, NC_000002.12 (189031915..189179879, complement)	<b>PTPN11</b>	176876	Cromosoma 12, NC_000012.12 (112418732..112509918)
<b>CORIN</b>	605236	Cromosoma 4, NC_000004.12 (47593998..47838106, complement)	<b>RAF1</b>	164760	Cromosoma 3, NC_000003.12 (12583601..12664201, complement)
<b>CRYAB</b>	123590	Cromosoma 11, NC_000011.10 (111908626..111911749, complement)	<b>RANGRF</b>	607954	Cromosoma 17, NC_000017.11 (8288427..8290092)
<b>CSRP3</b>	600824	Cromosoma 11, NC_000011.10 (19182030..19210571, complement)	<b>RBM20</b>	613171	Cromosoma 10, NC_000010.11 (110644397..110839469)
<b>CTF1</b>	600435	Cromosoma 16, NC_000016.10 (30896607..30903560)	<b>RBX1</b>	603814	Cromosoma 22, NC_000022.11 (40951347..40973015)

<b>CTNNA3</b>	607667	Cromosoma 10, NC_000010.11 (65912518..67696191, complement)	<b>REN</b>	179820	Cromosoma 1, NC_000001.11 (204154816..204166337, complement)
<b>CXADR</b>	602621	Cromosoma 21, NC_000021.9 (17512906..17593579)	<b>RYR2</b>	180902	Cromosoma 1, NC_000001.11 (237042210..237833988)
<b>CYP11B2</b>	124080	Cromosoma 8, NC_000008.11 (142910559..142917843, complement)	<b>SCN1B</b>	600235	Cromosoma 19, NC_000019.10 (35030688..35040449)
<b>DES</b>	125660	Cromosoma 2, NC_000002.12 (219418377..219426739)	<b>SCN2B</b>	601327	Cromosoma 11, NC_000011.10 (118162804..118176622, complement)
<b>DMD</b>	300377	Cromosoma X, NC_000023.11 (31119222..33339609, complement)	<b>SCN3B</b>	608214	Cromosoma 11, NC_000011.10 (123629187..123654607, complement)
<b>DMPK</b>	605377	Cromosoma 19, NC_000019.10 (45769709..45782557, complement)	<b>SCN4B</b>	608256	Cromosoma 11, NC_000011.10 (118133377..118152915, complement)
<b>DOLK</b>	610746	Cromosoma 9, NC_000009.12 (128945530..128947733, complement)	<b>SCN5A</b>	600163	Cromosoma 3, NC_000003.12 (38548062..38649673, complement)
<b>DPP6</b>	126141	Cromosoma 7, NC_000007.14 (153748189..154894285)	<b>SCNN1B</b>	600760	Cromosoma 16, NC_000016.10 (23302270..23381299)
<b>DSC2</b>	125645	Cromosoma 18, NC_000018.10 (31065976..31102425, complement)	<b>SCNN1G</b>	600761	Cromosoma 16, NC_000016.10 (23182719..23216880)
<b>DSG2</b>	125671	Cromosoma 18, NC_000018.10 (31498064..31548851)	<b>SFTPC</b>	178620	Cromosoma 8, NC_000008.11 (22158721..22164479)
<b>DSP</b>	125647	Cromosoma 6, NC_000006.12 (7541637..7586713)	<b>SGCA</b>	600119	Cromosoma 17, NC_000017.11 (50165879..50175932)
<b>DTNA</b>	601239	Cromosoma 18, NC_000018.10 (34493290..34891844)	<b>SGCB</b>	600900	Cromosoma 4, NC_000004.12 (52019586..52052400, complement)

<b>ELN</b>	130160	Cromosoma 7, NC_000007.14 (74027789..74069907)	<b>SGCD</b>	601411	Cromosoma 5, NC_000005.10 (156035139..156767788)
<b>EMD</b>	300384	Cromosoma X, NC_000023.11 (154379237..154381523)	<b>SHOC2</b>	602775	Cromosoma 10, NC_000010.11 (110919543..111013667)
<b>ENG</b>	131195	Cromosoma 9, NC_000009.12 (127815012..127854773, complement)	<b>SKI</b>	164780	Cromosoma 1, NC_000001.11 (2228695..2310213)
<b>ERF</b>	611888	Cromosoma 19, NC_000019.10 (42247565..42255157, complement)	<b>SLC25A4</b>	103220	Cromosoma 4, NC_000004.12 (185143263..185150384)
<b>ESR2</b>	601663	Cromosoma 14, NC_000014.9 (64184009..64338580, complement)	<b>SLC2A10</b>	606145	Cromosoma 20, NC_000020.11 (46709640..46736347)
<b>EYA1</b>	601653	Cromosoma 8, NC_000008.11 (71197433..71547649, complement)	<b>SLC39A13</b>	608735	Cromosoma 11, NC_000011.10 (47407132..47416500)
<b>EYA4</b>	603550	Cromosoma 6, NC_000006.12 (133241357..133532120)	<b>SMAD1</b>	601595	Cromosoma 4, NC_000004.12 (145481306..145559176)
<b>FBN1</b>	134797	Cromosoma 15, NC_000015.10 (48408306..48645788, complement)	<b>SMAD3</b>	603109	Cromosoma 15, NC_000015.10 (67065857..67195195)
<b>FBN2</b>	612570	Cromosoma 5, NC_000005.10 (128257909..128538042, complement)	<b>SMAD4</b>	600993	Cromosoma 18, NC_000018.10 (51030213..51085042)
<b>FHL1</b>	300163	Cromosoma X, NC_000023.11 (136146702..136211359)	<b>SMAD9</b>	603295	Cromosoma 13, NC_000013.11 (36844831..36920272, complement)
<b>FHL2</b>	602633	Cromosoma 2, NC_000002.12 (105360812..105438773, complement)	<b>SNTA1</b>	601017	Cromosoma 20, NC_000020.11 (33407957..33443892, complement)
<b>FHOD3</b>	609691	Cromosoma 18, NC_000018.10 (36297696..36780059)	<b>SOS1</b>	182530	Cromosoma 2, NC_000002.12 (38981549..39120543, complement)

<b>FKBP1A</b>	186945	Cromosoma 20, NC_000020.11 (1368977..1393172, complement)	<b>SPRED1</b>	609291	Cromosoma 15, NC_000015.10 (38252724..38357249)
<b>FKBP1B</b>	600620	Cromosoma 2, NC_000002.12 (24049714..24063681)	<b>SQSTM1</b>	601530	Cromosoma 5, NC_000005.10 (179806388..179838078)
<b>FKRP</b>	606596	Cromosoma 19, NC_000019.10 (46746046..46758575)	<b>SRF</b>	600589	Cromosoma 6, NC_000006.12 (43171182..43181506)
<b>FKTN</b>	607440	Cromosoma 9, NC_000009.12 (105558130..105641118)	<b>SRY</b>	480000	Cromosoma Y, NC_000087.7 (2662471..2663658, complement)
<b>FLNA</b>	300017	Cromosoma X, NC_000023.11 (154348532..154374638, complement)	<b>TAZ</b>	300394	Cromosoma X, NC_000023.11 (154411541..154421726)
<b>FLNC</b>	102565	Cromosoma 7, NC_000007.14 (128830382..128859274)	<b>TBX20</b>	606061	Cromosoma 7, NC_000007.14 (35202430..35254100, complement)
<b>FXN</b>	606829	Cromosoma 9, NC_000009.12 (69035563..69100178)	<b>TBX5</b>	601620	Cromosoma 12, NC_000012.12 (114353930..114408442, complement)
<b>GAA</b>	606800	Cromosoma 17, NC_000017.11 (80101541..80119881)	<b>TCAP</b>	604488	Cromosoma 17, NC_000017.11 (39665346..39666554)
<b>GADD45B</b>	604948	Cromosoma 19, NC_000019.10 (2476125..2478259)	<b>TERC</b>	602322	Cromosoma 3, NC_000003.12 (169764610..169765060, complement)
<b>GATA4</b>	600576	Cromosoma 8, NC_000008.11 (11676924..11760001)	<b>TERT</b>	187270	Cromosoma 5, NC_000005.10 (1253167..1295047, complement)
<b>GHSR</b>	601898	Cromosoma 3, NC_000003.12 (172443291..172448456, complement)	<b>TGFB1</b>	190180	Cromosoma 19, NC_000019.10 (41330531..41353933, complement)
<b>GJA1</b>	121014	Cromosoma 6, NC_000006.12 (121435599..121449727)	<b>TGFB2</b>	190220	Cromosoma 1, NC_000001.11 (218345334..218444619)

<b>GJA5</b>	121013	Cromosoma 1, NC_000001.11 (147756199..147781054, complement)	<b>TGFB3</b>	190230	Cromosoma 14, NC_000014.9 (75958097..75982991, complement)
<b>GLA</b>	300644	Cromosoma X, NC_000023.11 (101397791..101408013, complement)	<b>TGFBR1</b>	190181	Cromosoma 9, NC_000009.12 (99105130..99154192)
<b>GNAQ</b>	600998	Cromosoma 9, NC_000009.12 (77716274..78031449, complement)	<b>TGFBR2</b>	190182	Cromosoma 3, NC_000003.12 (30606502..30694142)
<b>GNB3</b>	139130	Cromosoma 12, NC_000012.12 (6840211..6847400)	<b>TGFBR3</b>	600742	Cromosoma 1, NC_000001.11 (91680343..91906002, complement)
<b>GPD1L</b>	611778	Cromosoma 3, NC_000003.12 (32106511..32168715)	<b>TKT</b>	606781	Cromosoma 3, NC_000003.12 (53224707..53256114, complement)
<b>HCN1</b>	602780	Cromosoma 5, NC_000005.10 (45254950..45696118, complement)	<b>TMEM43</b>	612048	Cromosoma 3, NC_000003.12 (14124940..14143680)
<b>HCN4</b>	605206	Cromosoma 15, NC_000015.10 (73319859..73369264, complement)	<b>TMPO</b>	188380	Cromosoma 12, NC_000012.12 (98515573..98550379)
<b>HFE</b>	613609	Cromosoma 6, NC_000006.12 (26087281..26096117)	<b>TNNC1</b>	191040	Cromosoma 3, NC_000003.12 (52451091..52454041, complement)
<b>HRAS</b>	190020	Cromosoma 11, NC_000011.10 (532242..535561, complement)	<b>TNNI3</b>	191044	Cromosoma 19, NC_000019.10 (55151767..55157732, complement)
<b>IGF1R</b>	147370	Cromosoma 15, NC_000015.10 (98649047..98964530)	<b>TNNT2</b>	191045	Cromosoma 1, NC_000001.11 (201359008..201377760, complement)
<b>IL6</b>	147620	Cromosoma 7, NC_000007.14 (22727147..22732002)	<b>TNXB</b>	600985	Cromosoma 6, NC_000006.12 (32041155..32109374, complement)
<b>JAG1</b>	601920	Cromosoma 20, NC_000020.11 (10637684..10674046, complement)	<b>TPM1</b>	191010	Cromosoma 15, NC_000015.10 (63042639..63071915)

<b>JPH2</b>	605267	Cromosoma 20, NC_000020.11 (44111697..44187578, complement)	<b>TRDN</b>	603283	Cromosoma 6, NC_000006.12 (123216339..123637283, complement)
<b>JUP</b>	173325	Cromosoma 17, NC_000017.11 (41754607..41786712, complement)	<b>TRIM55</b>	606469	Cromosoma 8, NC_000008.11 (66127043..66175485)
<b>KCNA5</b>	176267	Cromosoma 12, NC_000012.12 (5043919..5046788)	<b>TRIM63</b>	606131	Cromosoma 1, NC_000001.11 (26051304..26067634, complement)
<b>KCND3</b>	605411	Cromosoma 1, NC_000001.11 (111775809..111989530, complement)	<b>TRPM4</b>	606936	Cromosoma 19, NC_000019.10 (49157759..49211841)
<b>KCNE1</b>	176261	Cromosoma 21, NC_000021.9 (34446688..34512275, complement)	<b>TTN</b>	188840	Cromosoma 2, NC_000002.12 (178525989..178807423, complement)
<b>KCNE1L</b>	300328	Cromosoma X, NC_000023.11 (109623700..109625164, complement)	<b>TTR</b>	176300	Cromosoma 18, NC_000018.10 (31591767..31599024)



### ▪ Apéndice 3. MCR asociada a cardiopatía congénita familiar

**Caso índice.-** Varón diagnosticado de cardiopatía congénita tipo comunicación interauricular seno venoso (CIA tipo SV) a los 10 años. A los 22 años comienza con síntomas de ICC, se objetiva MCR e hipertensión pulmonar, precisando varios ingresos por descompensación de ICC. En la evolución posterior desarrolló FA complicada con un embolismo periférico a los 25 años. En seguimiento desde los 38 años por la unidad de TXC del Hospital Puerta de Hierro, a los 47 años fue incluido en lista para TXC con el diagnóstico de MCR asociada a CIA tipo SV e hipertensión pulmonar grave con ICC refractaria derecha e izquierda. El resumen de los hallazgos de la evaluación preTXC se presenta en la tabla A2. El paciente fue trasplantado a los 48 años falleciendo por complicaciones postquirúrgicas unas semanas después del TXC.

**Tabla A2. Características clínicas de la evaluación preTXC**

<b>Analítica</b>	Cr: 0,8 g/dL; NTproBNP: 551 pg/dL; ALT: 44 U/mL; AST: 52; GGT: 129
<b>ECG</b>	FA. Alteraciones difusas de la repolarización sin alteraciones de la conducción (QRS 110 ms). Signos de CVD.
<b>Ecocardiograma</b>	Crecimiento biauricular (AI=64 mm; AD=54 mm). VI de tamaño, grosor y función sistólica normales: DTDVI=40 (87%*), SIV=10 mm; FEVI=74%; TDM=127 ms. Válvula mitral engrosada con prolapso de ambos velos. VD dilatado con disfunción sistólica leve (TAPSE=13 mm). Dilatación de la arteria pulmonar y ramas principales. Signos de hipertensión pulmonar.
<b>Hemodinámica</b>	PAD=28 mmHg; PAP S/D(M)=86/65(72) mmHg; PCP=34 mmHg; IC=2,7 L/min/m <sup>2</sup> ; RVP= 5,4 UW
<b>Holter</b>	FA permanente. TVNS de 5 latidos
<b>TM6M</b>	440 ms
<b>Consumo de O2</b>	17 ml/kg/min

\*Calculado según la fórmula de Henry <sup>(107)</sup>. Cr: creatinina; CVD: crecimiento ventricular derecho; DTDVI: diámetro telediastólico VI; FA: fibrilación auricular; FEVI: fracción de eyección del VI; IC: índice cardíaco; PAD: presión AD; PAP S/D(M): presión arteria pulmonar sistólica/diastólica (media); PCP: presión de enclavamiento pulmonar; RVP: resistencia vascular pulmonar; SIV: septo interauricular; TDM: tiempo de desaceleración de la onda E mitral; TM6M: test de la marcha de los 6 minutos; TVNS: taquicardia ventricular no sostenida; UW: unidades Wood.

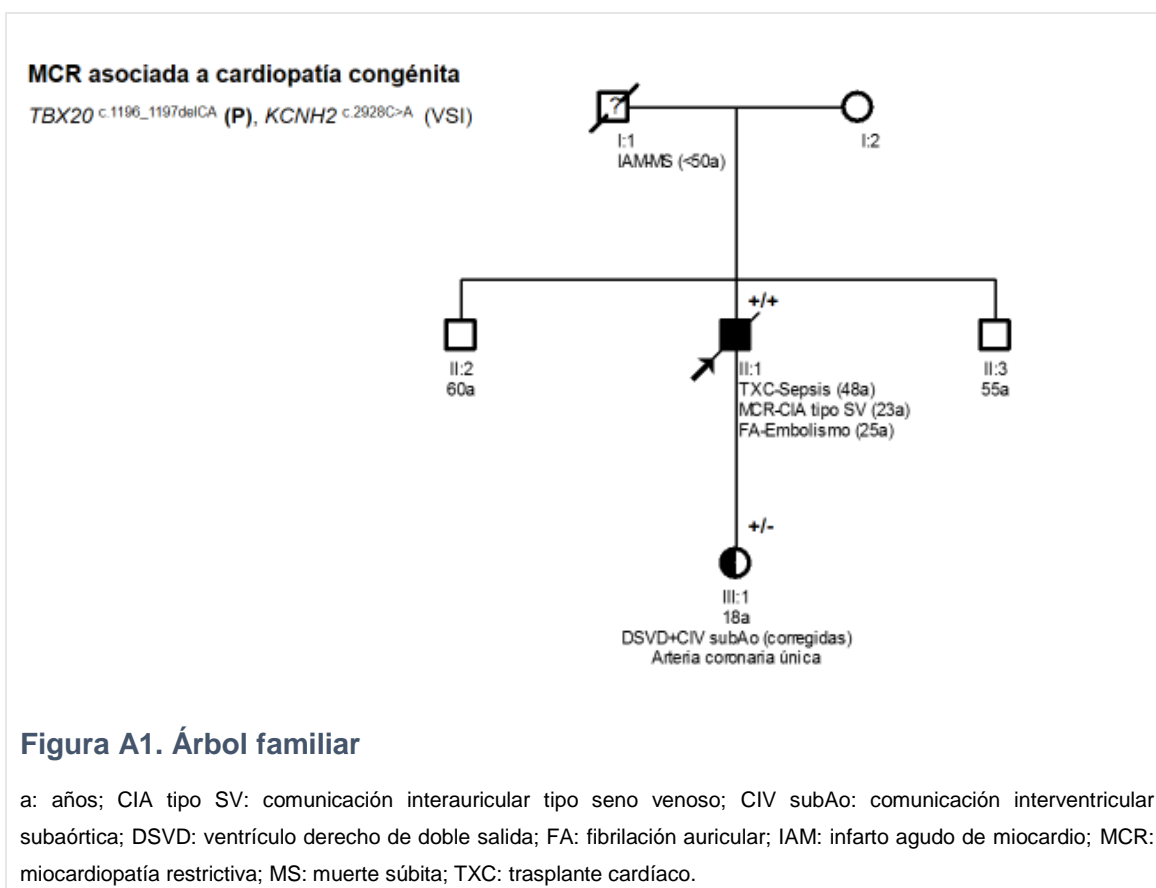
**Estudio genético.-** se realizó estudio genético mediante NGS con panel de 239 genes relacionados con cardiopatías hereditarias, encontrándose dos variantes genéticas en heterocigosis no descritas previamente y no presentes en controles: NM\_000238.3:c.2928C>A en *KCNH2* y NM\_001077653.2:c.1196\_1197delCA en *TBX20*.

*KCNH2* codifica por un canal de potasio y las mutaciones en este gen se han relacionado con síndrome de QT largo. En principio la mutación *KCNH2* p.D976E afecta a un residuo poco conservado y las propiedades físicoquímicas se verían ligeramente alteradas. Los estudios bioinformáticos predijeron que es una mutación bien tolerada. No se consideró por tanto una variante genética candidata a ser la causa de la enfermedad del paciente.

Por su parte, *TBX20* codifica por un factor de transcripción que actúa como regulador de múltiples funciones, tanto en el desarrollo embrionario cardíaco como en el corazón adulto. Las mutaciones descritas hasta el momento producen tanto pérdida como ganancia en la función del gen y se han relacionado con miocardiopatía dilatada, defectos cardíacos septales y anomalías valvulares. En este caso la mutación *TBX20* p.P399fs predice un desplazamiento del marco de lectura de la secuencia genómica que produciría la adición anormal de varios residuos a la proteína para finalmente producirse un truncamiento. Se vería afectada la mitad C-terminal de la proteína, región portadora de los dominios reguladores transcripcionales de transactivación y transrepresión.

**Estudio familiar.-** En relación con la historia familiar, el padre del paciente había fallecido súbitamente en el dudoso contexto de un infarto de miocardio a edad temprana. Tenía dos hermanos sanos y una hija con una cardiopatía congénita compleja consistente en un ventrículo derecho de doble salida (DSVD), asociada a una comunicación interventricular (CIV) subaórtica (corregidas quirúrgicamente al poco de nacer) junto con una arteria coronaria única. En una resonancia magnética cardíaca se describe no compactación en la pared lateral de ventrículo izquierdo.

Se ofreció estudio genético de las variantes encontradas, confirmándose que era portadora de la mutación *TBX20* p.P399fs (figura A1).



**Discusión.-** Este caso fue excluido del análisis de la cohorte al no poder considerarlo una MCR idiopática por presentarse asociada a una cardiopatía congénita, de acuerdo con la definición de miocardiopatías <sup>(1)</sup>.

*TBX20* es un gen esencial en el desarrollo embrionario cardíaco que también participa en la regulación de diferentes procesos en el corazón adulto. Se han relacionado mutaciones en este gen con diversas patologías cardíacas, incluyendo defectos septales, valvulogénesis y miocardiopatía.

Kirk et al. describen en 2007 dos familias con cardiopatías congénitas y mutaciones en este gen. La primera familia predominaban los defectos septales (atriales y ventriculares) debidos a una mutación tipo *missense* (*TBX20* p.L152M). En la segunda familia, se encontró una mutación que causaba un truncamiento (*TBX20* p.Q195X) y se caracterizaba por manifestaciones cardiológicas más complejas con defectos septales, miocardiopatía (levemente) dilatada, hipertensión pulmonar y anomalías valvulares en la mitral, hallazgos que son semejantes a los de nuestro caso índice <sup>(138)</sup>. Los defectos septales atriales asociados a mutaciones en *TBX20* están caracterizados como CIA tipo 4 por la OMIM (MIM #611363) <sup>(138,139)</sup>. Recientemente se ha publicado una familia con varios casos de DSVD y patrón de herencia autosómico dominante asociada a la mutación *missense* *TBX20* p.R143W que cosegregaba con la cardiopatía congénita en la familia <sup>(140)</sup>.

Por otra parte, la asociación de MCR con cardiopatías congénitas no es nueva, si no que se ha descrito varios casos de MCR y defectos septales asociada a mutaciones en genes sarcoméricos, especialmente con *ACTC1* y *TNNI3* <sup>(67,141,142)</sup>.

En esta familia tanto el caso índice como su hija presentaban dos cardiopatías congénitas, CIA y DSVD asociado con CIV, respectivamente. Todas ellas se han relacionado previamente con mutaciones en *TBX20* aunque los casos clínicos reportados en la literatura son escasos y el conocimiento sobre las implicaciones patogénicas potenciales de este gen se basa fundamentalmente en modelos animales. Dado que el defecto genético cosegrega con la cardiopatía y que se trata de una mutación que predice un truncamiento de la proteína, *TBX20* p.P399fs podría ser la causa de la cardiopatía familiar.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Elliott P, Andersson B, Arbustini E, Bilinska Z, Cecchi F, Charron P, et al. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J*. 2008;29:270-276.
2. Suárez-Mier MP, Aguilera B. Causas de muerte súbita asociada al deporte en España. *Rev Esp Cardiol*. 2002;55:347-358.
3. Lund LH, Edwards LB, Kucheryavaya AY, Benden C, Christie JD, Dipchand AI, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-first Official Adult Heart Transplant Report-2014; Focus Theme: Retransplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2014;33:996-1008.
4. Oakley CM. Report of the WHO/ISFC task force on the definition and classification of cardiomyopathies. *Br Heart J*. 1980;44:672-673.
5. Richardson P, McKenna W, Bristow M, Maisch B, Mautner B, O'Connell J, et al. Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of Cardiomyopathies. *Circulation*. 1996;93:841-842.
6. Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, Antzelevitch C, Corrado D, Arnett D, et al. Contemporary Definitions and Classification of the Cardiomyopathies: An American Heart Association Scientific Statement From the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation*. 2006;113:1807-1816.
7. Arbustini E, Narula N, Dec GW, Reddy KS, Greenberg B, Kushwaha S, et al. The MOGE(S) Classification for a Phenotype–Genotype Nomenclature of

- Cardiomyopathy: Endorsed by the World Heart Federation. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:2046-2072.
8. Jacoby D, McKenna WJ. Genetics of inherited cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 2012;33:296-U163.
  9. Charron P, Arad M, Arbustini E, Basso C, Bilinska Z, Elliott P, et al. Genetic counselling and testing in cardiomyopathies: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J*. 2010;31:2715-2726.
  10. Cobo-Marcos M, Gallego-Delgado M, Garcia-Pavia P. Aplicación práctica de la genética en el manejo de las miocardiopatías. *Cardiocyte*. 2014;49:52-58.
  11. Wilde AAM, Behr ER. Genetic testing for inherited cardiac disease. *Nat Rev Cardiol*. 2013;10:571-583.
  12. Geisterfer-Lowrance AAT, Kass S, Tanigawa G, Vosberg H-P, McKenna W, Seidman CE, et al. A molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy: A  $\beta$  cardiac myosin heavy chain gene missense mutation. *Cell*. 1990;62:999-1006.
  13. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The Sequence of the Human Genome. *Science*. 2001;291:1304-1351.
  14. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Int Human Genome Sequencing, Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001;409:860-921.
  15. Hershberger RE, Lindenfeld J, Mestroni L, Seidman CE, Taylor MRG, Towbin JA. Genetic Evaluation of Cardiomyopathy. A Heart Failure Society of America Practice Guideline. *J Card Fail*. 2009;15:83-97.
  16. Ackerman MJ, Priori SG, Willems S, Berul C, Brugada R, Calkins H, et al. HRS/EHRA Expert Consensus Statement on the State of Genetic Testing for the Channelopathies and Cardiomyopathies: This document was developed as

- a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Europace*. 2011;13:1077-1109.
17. Goodwin JF. Prospects and Predictions for the Cardiomyopathies. *Circulation*. 1974;50:210-219.
  18. Ammash NM, Seward JB, Bailey KR, Edwards WD, Tajik AJ. Clinical Profile and Outcome of Idiopathic Restrictive Cardiomyopathy. *Circulation*. 2000;101:2490-2496.
  19. Moyssakis I, Triposkiadis F, Rallidis L, Hawkins P, Kyriakidis M, Nihoyannopoulos P. Echocardiographic features of primary, secondary and familial amyloidosis. *Eur J Clin Invest*. 1999;29:484-489.
  20. Kushwaha SS, Fallon JT, Fuster V. Restrictive Cardiomyopathy. *New Engl J Med*. 1997;336:267-276.
  21. Sen-Chowdhry S, Syrris P, McKenna WJ. Genetics of Restrictive Cardiomyopathy. *Heart Fail Clin*. 2010;6:179-186.
  22. Mocumbi AOH, Falase AO. Recent advances in the epidemiology, diagnosis and treatment of endomyocardial fibrosis in Africa. *Heart*. 2013;99:1481-1487.
  23. Webber SA, Lipshultz SE, Sleeper LA, Lu M, Wilkinson JD, Addonizio LJ, et al. Outcomes of Restrictive Cardiomyopathy in Childhood and the Influence of Phenotype: A Report From the Pediatric Cardiomyopathy Registry. *Circulation*. 2012;126:1237-1244.
  24. Leone O, Veinot JP, Angelini A, Baandrup UT, Basso C, Berry G, et al. 2011 Consensus statement on endomyocardial biopsy from the Association for European Cardiovascular Pathology and the Society for Cardiovascular Pathology. *Cardiovasc Pathol*. 2011;21:245-274.
  25. García-Pavía P, Avellana P, Bornstein B, Heine-Suñer D, Cobo-Marcos M, Gómez-Bueno M, et al. Abordaje familiar en la amiloidosis cardiaca hereditaria por transtiretina. *Rev Esp Cardiol*. 2011;64:523-526.

26. Bennett MK, Gilotra NA, Harrington C, Rao S, Dunn JM, Freitag TB, et al. Evaluation of the Role of Endomyocardial Biopsy in 851 Patients With Unexplained Heart Failure From 2000–2009. *Circ Heart Fail*. 2013;6:676-684.
27. Siegel RJ, Shah PK, Fishbein MC. Idiopathic restrictive cardiomyopathy. *Circulation*. 1984;70:165-169.
28. Hosenpud JD, Niles NR. Clinical, hemodynamic and endomyocardial biopsy findings in idiopathic restrictive cardiomyopathy. *West J Med*. 1986;144:303-306.
29. Angelini A, Calzolari V, Thiene G, Boffa GM, Valente M, Daliento L, et al. Morphologic spectrum of primary restrictive cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 1997;80:1046-1050.
30. Arbustini E, Morbini P, Grasso M, Fasani R, Verga L, Bellini O, et al. Restrictive cardiomyopathy, atrioventricular block and mild to subclinical myopathy in patients with desmin-immunoreactive material deposits. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31:645-653.
31. Hillsley RE, Hernandez E, Steenbergen C, Bashore TM, Harrison JK. Inherited restrictive cardiomyopathy in a 74-year-old woman: a case of Fabry's disease. *Am Heart J*. 1995;129:199-202.
32. Redfield MM. Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección normal. En: Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P. Braunwald Tratado de Cardiología. Vol 1. 9ª ed. Barcelona: Elsevier España SL; 2013. p. 592-606.
33. Zile MR, Baicu CF, Gaasch WH. Diastolic Heart Failure - Abnormalities in Active Relaxation and Passive Stiffness of the Left Ventricle. *New Engl J Med*. 2004;350:1953-1959.
34. Klabunde RE. Cardiovascular physiology concepts (Internet). 2<sup>nd</sup> ed. Baltimore (MD): Lippincott Williams & Wilkins; 2011 (actualizado 04/01/2014; citado 15/03/2015). Disponible en: <http://cvphysiology.com/index.html>



35. Wan S-H, Vogel MW, Chen HH. Preclinical Diastolic Dysfunction. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63:407-416.
36. Talreja DR, Nishimura RA, Oh JK, Holmes DR. Constrictive Pericarditis in the Modern Era: Novel Criteria for Diagnosis in the Cardiac Catheterization Laboratory. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51:315-319.
37. Hare JM. Miocardiopatía dilatada, restrictiva e infiltrante. En: Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P. *Braunwald Tratado de Cardiología.* Vol 2. 9ª ed. Barcelona: Elsevier España SL; 2013. p.1583-1602.
38. Appleton CP, Hatle LK, Popp RL. Demonstration of restrictive ventricular physiology by Doppler echocardiography. *J Am Coll Cardiol.* 1988;11:757-768.
39. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography. *Eur J Echocardiogr.* 2009;10:165-193.
40. Martín García A, Hernandez Hernandez J, Gallego Delgado M, Arribas Jimenez A, Nieto Ballesteros F. Valoración de la función sistólica y diastólica ventricular izquierda. En: Martín Moreiras J, Solís Martín J, Cruz González I, Fernández-Freire L, Llano Cardenal M. *Manual de Imagen en Cardiología.* 1ª ed. Madrid: PULSO; 2011. p.111-153.
41. Nishimura RA, Appleton CP, Redfield MM, Ilstrup DM, Holmes Jr DR, Tajik AJ. Noninvasive doppler echocardiographic evaluation of left ventricular filling pressures in patients with cardiomyopathies: A simultaneous doppler echocardiographic and cardiac catheterization study. *J Am Coll Cardiol.* 1996;28:1226-1233.
42. Yamamoto K, Masuyama T, Doi Y, Naito J, Mano T, Kondo H, et al. Noninvasive Assessment of Left Ventricular Relaxation Using Continuous-Wave Doppler Aortic Regurgitant Velocity Curve: Its Comparative Value to the Mitral Regurgitation Method. *Circulation.* 1995;91:192-200.

43. Pai RG, Suzuki M, Heywood JT, Ferry DR, Shah PM. Mitral A velocity wave transit time to the outflow tract as a measure of left ventricular diastolic stiffness. Hemodynamic correlations in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 1994;89:553-557.
44. Oh JK, Hatle L, Tajik AJ, Little WC. Diastolic Heart Failure Can Be Diagnosed by Comprehensive Two-Dimensional and Doppler Echocardiography. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47:500-506.
45. Whalley GA, Gamble GD, Doughty RN. The prognostic significance of restrictive diastolic filling associated with heart failure: A meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2007;116:70-77.
46. Kaski JP, Syrris P, Burch M, Esteban MTT, Fenton M, Christiansen M, et al. Idiopathic restrictive cardiomyopathy in children is caused by mutations in cardiac sarcomere protein genes. *Heart*. 2008;94:1478-1484.
47. Biagini E, Spirito P, Rocchi G, Ferlito M, Rosmini S, Lai F, et al. Prognostic Implications of the Doppler Restrictive Filling Pattern in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 2009;104:1727-1731.
48. Kubo T, Gimeno JR, Bahl A, Steffensen U, Steffensen M, Osman E, et al. Prevalence, clinical significance, and genetic basis of hypertrophic cardiomyopathy with restrictive phenotype. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:2419-2426.
49. Keren A, Popp RL. Assignment of patients into the classification of cardiomyopathies. *Circulation*. 1992;86:1622-1633.
50. Keren A, Billingham ME, Popp RL. Features of mildly dilated congestive cardiomyopathy compared with idiopathic restrictive cardiomyopathy and typical dilated cardiomyopathy. *J Am Soc Echocardiogr*. 1988;1:78-87.
51. Benotti JR, Grossman W, Cohn PF. Clinical profile of restrictive cardiomyopathy. *Circulation*. 1980;61:1206-1212.

52. Hirota Y, Shimizu G, Kita Y, Nakayama Y, Suwa M, Kawamura K, et al. Spectrum of restrictive cardiomyopathy: Report of the national survey in Japan. *Am Heart J*. 1990;120:188-194.
53. Katritsis D, Wilmschurst PT, Wendon JA, Davies MJ, Webb-Peploe MM. Primary restrictive cardiomyopathy: Clinical and pathologic characteristics. *J Am Coll Cardiol*. 1991;18:1230-1235.
54. McMurray JJV, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Böhm M, Dickstein K, et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail*. 2012; 14: 803-869.
55. ONT: Organización nacional de trasplante (Internet). ONT; c2000 (citado el 15/03/2015). Memoria de la donación y trasplante cardíaco. España 2012. Disponible en: <http://www.ont.es/infesp/Paginas/DatosdeDonacionyTrasplante.aspx>
56. DePasquale EC, Nasir K, Jacoby DL. Outcomes of adults with restrictive cardiomyopathy after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2012;31:1269-1275.
57. Cetta F, O'Leary PW, Seward JB, Driscoll DJ. Idiopathic Restrictive Cardiomyopathy in Childhood: Diagnostic Features and Clinical Course. *Mayo Clin Proc*. 1995;70:634-640.
58. Rivenes SM, Kearney DL, Smith EOB, Towbin JA, Denfield SW. Sudden Death and Cardiovascular Collapse in Children With Restrictive Cardiomyopathy. *Circulation*. 2000;102:876-882.
59. Russo LM, Webber SA. Idiopathic restrictive cardiomyopathy in children. *Heart*. 2005;91:1199-1202.

60. VanderPluym C, Graham DA, Almond CS, Blume ED, Milliren CE, Singh TP. Survival in patients removed from the heart transplant waiting list before receiving a transplant. *J Heart Lung Transplant*. 2014;33:261-269.
61. Aroney C, Bett N, Radford D. Familial restrictive cardiomyopathy. *Aust N Z J Med*. 1988;18:877-878.
62. Fitzpatrick AP, Shapiro LM, Rickards AF, Poolewilson PA. Familial restrictive cardiomyopathy with atrioventricular block and skeletal myopathy. *Br Heart J*. 1990;63:114-118.
63. Feld S, Caspi A. Familial cardiomyopathy with variable hypertrophic and restrictive features and common HLA haplotype. *Isr J Med Sci*. 1992;28:277-280.
64. Denfield SW, Rosenthal G, Gajarski RJ, Bricker JT, Schowengerdt KO, Price JK, et al. Restrictive cardiomyopathies in childhood. Etiologies and natural history. *Tex Heart Inst J*. 1997;24:38-44.
65. Mogensen J, Kubo T, Duque M, Uribe W, Shaw A, Murphy R, et al. Idiopathic restrictive cardiomyopathy is part of the clinical expression of cardiac troponin I mutations. *J Clin Invest*. 2003;111:209-216.
66. Peddy SB, Vricella LA, Crosson JE, Oswald GL, Cohn RD, Cameron DE, et al. Infantile restrictive cardiomyopathy resulting from a mutation in the cardiac troponin T gene. *Pediatrics*. 2006;117:1830-1833.
67. Monserrat L, Hermida-Prieto M, Fernandez X, Rodriguez I, Dumont C, Cazon L, et al. Mutation in the alpha-cardiac actin gene associated with apical hypertrophic cardiomyopathy, left ventricular non-compaction, and septal defects. *Eur Heart J*. 2007;28:1953-1961.
68. Karam S, Raboisson M-J, Ducreux C, Chalabreysse L, Millat G, Bozio A, et al. A de novo mutation of the beta cardiac myosin heavy chain gene in an infantile restrictive cardiomyopathy. *Congenit Heart Dis*. 2008;3:138-143.

69. Caleshu C, Sakhuja R, Nussbaum RL, Schiller NB, Ursell PC, Eng C, et al. Furthering the Link Between the Sarcomere and Primary Cardiomyopathies: Restrictive Cardiomyopathy Associated with Multiple Mutations in Genes Previously Associated With Hypertrophic or Dilated Cardiomyopathy. *Am J Med Genet A*. 2011;155:2229-2235.
70. Peled Y, Gramlich M, Yoskovitz G, Feinberg MS, Afek A, Polak-Charcon S, et al. Titin Mutation in Familial Restrictive Cardiomyopathy. *Int J Cardiol*. 2014;171:24-30.
71. Bertini E, Bosman C, Bevilacqua M, Ricci E, Gagliardi GM, Parisi F, et al. Cardiomyopathy and multicore myopathy with accumulation of intermediate filaments. *Eur J Pediatr*. 1990;149:856-858.
72. Zachara E, Bertini E, Lioy E, Boldrini R, Prati PL, Bosman C. Restrictive cardiomyopathy due to desmin accumulation in a family with evidence of autosomal dominant inheritance. *G Ital Cardiol*. 1997;27:436-442.
73. Dalakas MC, Park K-Y, Semino-Mora C, Lee HS, Sivakumar K, Goldfarb LG. Desmin Myopathy, a Skeletal Myopathy with Cardiomyopathy Caused by Mutations in the Desmin Gene. *New Engl J Med*. 2000;342:770-780.
74. Arbustini E, Pasotti M, Pilotto A, Pellegrini C, Grasso M, Previtali S, et al. Desmin accumulation restrictive cardiomyopathy and atrioventricular block associated with desmin gene defects. *Eur J Heart Fail*. 2006;8:477-483.
75. Vicart P, Caron A, Guicheney P, Li Z, Prevost M-C, Faure A, et al. A missense mutation in the alphaB-crystallin chaperone gene causes a desmin-related myopathy. *Nat Genet*. 1998;20:92-95.
76. Sanbe A, Osinska H, Saffitz JE, Glabe CG, Kaye R, Maloyan A, et al. Desmin-related cardiomyopathy in transgenic mice: A cardiac amyloidosis. *Proc Natl Acad Sc U S A*. 2004;101:10132-10136.

77. Sanbe A, Osinska H, Villa C, Gulick J, Klevitsky R, Glabe CG, et al. Reversal of amyloid-induced heart disease in desmin-related cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sc U S A*. 2005;102:13592-13597.
78. Maloyan A, Sanbe A, Osinska H, Westfall M, Robinson D, Imahashi K-i, et al. Mitochondrial Dysfunction and Apoptosis Underlie the Pathogenic Process in  $\alpha$ -B-Crystallin Desmin-Related Cardiomyopathy. *Circulation*. 2005;112:3451-3461.
79. Konersman CG, Bordini BJ, Scharer G, Lawlor MW, Zangwill S, Southern JF et al. BAG3 myofibrillar myopathy presenting with cardiomyopathy. *Neuromuscul Disord*. 2015;25:418-422.
80. Rai T, Ahmad S, Ahluwalia T, Ahuja M, Bahl A, Saikia U, et al. Genetic and clinical profile of Indian patients of idiopathic restrictive cardiomyopathy with and without hypertrophy. *Mol Cell Biochem*. 2009;331:187-192.
81. Cooke RA, Chambers JB, Curry PV. Noonan's cardiomyopathy: a non-hypertrophic variant. *Br Heart J*. 1994;71:561-565.
82. Wilmschurst PT, Katritsis D. Restrictive and hypertrophic cardiomyopathies in Noonan syndrome: the overlap syndromes. *Heart*. 1996;75:94-97.
83. Braksator W, Chybowska B, Kuch M, Dluzniewski M. Caracterización no invasiva de un caso de enfermedad de Danon. *Rev Esp Cardiol*. 2010;63:493-495.
84. Cheng Z, Cui Q, Tian Z, Xie H, Chen L, Fang L, et al. Danon disease as a cause of concentric left ventricular hypertrophy in patients who underwent endomyocardial biopsy. *Eur Heart J*. 2012;33:649-656.
85. Campos Y, Martín MA, Caballero C, Rubio JC, de la Cruz F, Tuñón T, et al. Single large-scale mitochondrial DNA deletion in a patient with encephalopathy, cardiomyopathy, and prominent intestinal pseudo-obstruction. *Neuromuscul Disord*. 2000;10:56-58.

86. Thebault C, Ollivier R, Leurent G, Marcorelles P, Langella B, Donal E. Mitochondriopathy: a rare aetiology of restrictive cardiomyopathy. *Eur J Echocardiogr.* 2008;9:840-845.
87. Ganesh SK, Arnett DK, Assimes TL, Basson CT, Chakravarti A, Ellinor PT, et al. Genetics and Genomics for the Prevention and Treatment of Cardiovascular Disease: Update: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation.* 2013;128:2813-2851.
88. Hartmannova H, Kubanek M, Sramko M, Piherova L, Noskova L, Hodanova K, et al. Isolated X-Linked Hypertrophic Cardiomyopathy Caused by a Novel Mutation of the Four-and-a-Half LIM Domain 1 Gene. *Circ Cardiovasc Genet.* 2013;6:543-551.
89. Sanna T, Dello Russo A, Toniolo D, Vytopil M, Pelargonio G, De Martino G, et al. Cardiac features of Emery–Dreifuss muscular dystrophy caused by lamin A/C gene mutations. *Eur Heart J.* 2003;24:2227-2236.
90. Ware SM, Quinn ME, Ballard ET, Miller E, Uzark K, Spicer RL. Pediatric restrictive cardiomyopathy associated with a mutation in  $\beta$ -myosin heavy chain. *Clin Genet.* 2008;73:165-170.
91. Greenway SC, Wilson GJ, Wilson J, George K, Kantor PF. Sudden Death in an Infant With Angina, Restrictive Cardiomyopathy, and Coronary Artery Bridging An Unusual Phenotype for a beta-Myosin Heavy Chain (MYH7) Sarcomeric Protein Mutation. *Circ Heart Fail.* 2012;5:E92-E93.
92. Olson TM, Karst ML, Whitby FG, Driscoll DJ. Myosin Light Chain Mutation Causes Autosomal Recessive Cardiomyopathy With Mid-Cavitary Hypertrophy and Restrictive Physiology. *Circulation.* 2002;105:2337-2340.
93. Purevjav E, Arimura T, Augustin S, Huby A-C, Takagi K, Nunoda S, et al. Molecular basis for clinical heterogeneity in inherited cardiomyopathies due to myopalladin mutations. *Hum Mol Genet.* 2012;21:2039-2053.

94. Huby A-C, Mendsaikhan U, Takagi K, Martherus R, Wansapura J, Gong N, et al. Disturbance in Z-Disk Mechanosensitive Proteins Induced by a Persistent Mutant Myopalladin Causes Familial Restrictive Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64:2765-2776.
95. Parvatiyar MS PJ, Dweck D, Potter JD. Cardiac Troponin Mutations and Restrictive Cardiomyopathy. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010:350706.
96. Menon SC, Michels VV, Pellikka PA, Ballew JD, Karst ML, Herron KJ, et al. Cardiac troponin T mutation in familial cardiomyopathy with variable remodeling and restrictive physiology. *Clin Genet*. 2008;74:445-454.
97. Singer R, Schnabel A, Strasser RH. Restrictive Cardiomyopathy in Familial Amyloidosis TTR-Arg-50. *Circulation*. 2003;107:643-644.
98. Meder B, Haas J, Keller A, Heid C, Just S, Borries A, et al. Targeted Next-Generation Sequencing for the Molecular Genetic Diagnostics of Cardiomyopathies. *Circ Cardiovasc Genet*. 2011;4:110-122.
99. Phelan D, Wilson G, James P, Lockhart P. The genetics of cardiomyopathy, new technologies and the path to personalised medicine. *OA Genetics*. 2013;01:09.
100. George AL, Jr. Use of contemporary genetics in cardiovascular diagnosis. *Circulation*. 2014;130:1971-1980.
101. Metzker ML. Sequencing technologies - the next generation. *Nat Rev Genet*. 2010;11:31-46.
102. Lopes LR, Zekavati A, Syrris P, Hubank M, Giambartolomei C, Dalageorgou C, et al. Genetic complexity in hypertrophic cardiomyopathy revealed by high-throughput sequencing. *J Med Genet*. 2013;50:228-239.
103. Haas J, Frese KS, Peil B, Kloos W, Keller A, Nietsch R, et al. Atlas of the clinical genetics of human dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 2015;36:1123-1135.



104. Monserrat L, Ortiz-Genga M, Lesende I, Garcia-Giustiniani D, Barriales-Villa R, de Una-Iglesias D, et al. Genetics of cardiomyopathies: novel perspectives with next generation sequencing. *Curr Pharm Des.* 2015;21:418-430.
105. Gersh BJ, Maron BJ, Bonow RO, Dearani JA, Fifer MA, Link MS, et al. 2011 ACCF/AHA Guideline for the Diagnosis and Treatment of Hypertrophic Cardiomyopathy: A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines Developed in Collaboration With the American Association for Thoracic Surgery, American Society of Echocardiography, American Society of Nuclear Cardiology, Heart Failure Society of America, Heart Rhythm Society, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol.* 2011;58:e212-e260.
106. Elliott PM, Anastasakis A, Borger MA, Borggrefe M, Cecchi F, Charron P, et al. 2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy: The Task Force for the Diagnosis and Management of Hypertrophic Cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2014;35: 2733-2779.
107. Henry WL, Gardin JM, Ware JH. Echocardiographic measurements in normal subjects from infancy to old-age. *Circulation.* 1980;62:1054-1061.
108. van Spaendonck-Zwarts KY, van Rijsingen IAW, van den Berg MP, Lekanne Deprez RH, Post JG, van Mil AM, et al. Genetic analysis in 418 index patients with idiopathic dilated cardiomyopathy: overview of 10 years' experience. *Eur J Heart Fail.* 2013;15:628-636.
109. Bennett R, French K, Resta R, Doyle D. Standardized Human Pedigree Nomenclature: Update and Assessment of the Recommendations of the National Society of Genetic Counselors. *J Genet Couns.* 2008;17:424-433.

110. Topilsky Y, Pereira NL, Shah DK, Boilson B, Schirger JA, Kushwaha SS et al. Left Ventricular Assist Device Therapy in Patients With Restrictive and Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circ Heart Fail* 2011;4:266-75.
111. Bär H, Goudeau B, Wälde S, Casteras-Simon M, Mücke N, Shatunov A, et al. Conspicuous involvement of desmin tail mutations in diverse cardiac and skeletal myopathies. *Hum Mutat*. 2007;28:374-386.
112. Hermida-Prieto M, Monserrat L, Castro-Beiras A, Laredo R, Soler R, Peteiro J, et al. Familial dilated cardiomyopathy and isolated left ventricular noncompaction associated with lamin A/C gene mutations. *Am J Cardiol*. 2004;94:50-54.
113. Charron P, Villard E, Sébillon P, Laforêt P, Maisonneuve T, Duboscq-Bidot L, et al. Danon's disease as a cause of hypertrophic cardiomyopathy: a systematic survey. *Heart*. 2004;90:842-846.
114. Jääskeläinen P, Soranta M, Miettinen R, Saarinen L, Pihlajamäki J, Silvennoinen K, et al. The cardiac  $\beta$ -myosin heavy chain gene is not the predominant gene for hypertrophic cardiomyopathy in the Finnish population. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32:1709-1716.
115. Consevage MW, Salada GC, Baylen BG, Ladda RL, Rogan PK. A new missense mutation, Arg719Gln, in the  $\beta$ -cardiac heavy chain myosin gene of patients with familial hypertrophic cardiomyopathy. *Hum Mol Genet*. 1994;3:1025-1026.
116. Fokstuen S, Lyle R, Munoz A, Gehrig C, Lerch R, Perrot A, et al. A DNA resequencing array for pathogenic mutation detection in hypertrophic cardiomyopathy. *Hum Mutat*. 2008;29:879-885.
117. Nunez L, Gimeno-Blanes JR, Rodriguez-Garcia MI, Monserrat L, Zorio E, Coats C, et al. Somatic MYH7, MYBPC3, TPM1, TNNT2 and TNNI3 Mutations in Sporadic Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circ J*. 2013;77:2358-2365.

118. Maron BJ, Roberts WC, Arad M, Haas TS, Spirito P, Wright GB, et al. Clinical outcome and phenotypic expression in LAMP2 cardiomyopathy. *JAMA*. 2009;301:1253-1259.
119. Sewry CA, Brown SC, Mercuri E, Bonne G, Feng L, Camici G, et al. Skeletal muscle pathology in autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy with lamin A/C mutations. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2001;27:281-290.
120. Lukas J, Giese AK, Markoff A, Grittner U, Kolodny E, Mascher H, et al. Functional Characterisation of Alpha-Galactosidase A Mutations as a Basis for a New Classification System in Fabry Disease. *PLoS Genet*. 2013;9:e1003632.
121. Chen SC, Balfour IC, Jureidini S. Clinical spectrum of restrictive cardiomyopathy in children. *J Heart Lung Transplant*. 2001;20:90-92.
122. Weller RJ, Weintraub R, Addonizio LJ, Chrisant MRK, Gersony WM, Hsu DT. Outcome of idiopathic restrictive cardiomyopathy in children. *Am J Cardiol*. 2002;90:501-506.
123. Saxena P, Joyce LD, Daly RC, Kushwaha SS, Schirger JA, Rosedahl J, et al. Cardiac Transplantation for Radiation-Induced Cardiomyopathy: The Mayo Clinic Experience. *Ann Thorac Surg* 2014;98:2115-21.
124. Walsh MA, Grenier MA, Jefferies JL, Towbin JA, Lorts A, Czosek RJ. Conduction Abnormalities in Pediatric Patients With Restrictive Cardiomyopathy. *Circ Heart Fail*. 2012;5:267-273.
125. Kley RA, Hellenbroich Y, van der Ven PFM, Fürst DO, Huebner A, Bruchertseifer V, et al. Clinical and morphological phenotype of the filamin myopathy: a study of 31 German patients. *Brain*. 2007;130:3250-3264.
126. Valdés-Mas R, Gutiérrez-Fernández A, Gómez J, Coto E, Astudillo A, Puente DA, et al. Mutations in filamin C cause a new form of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Nat Commun*. 2014;5:5326.

127. Hayashi T, Arimura T, Itoh-Satoh M, Ueda K, Hohda S, Inagaki N, et al. Tcap gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy and dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44: 2192-2201.
128. Boucek D, Jirikowic J, Taylor M. Natural history of Danon disease. *Genet Med*. 2011;13:563-568.
129. Cheng Z, Fang Q. Danon disease: focusing on heart. *J Hum Genet*. 2012;57:407-410.
130. García-Pavía P, Vázquez ME, Segovia J, Salas C, Avellana P, Gómez-Bueno M, et al. Genetic basis of end-stage hypertrophic cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*. 2011;13:1193-1201.
131. Wordsworth S, Leal J, Blair E, Legood R, Thomson K, Seller A, et al. DNA testing for hypertrophic cardiomyopathy: a cost-effectiveness model. *Eur Heart J*. 2010;31: 926-935.
132. Ingles J, McGaughran J, Scuffham PA, Atherton J, Semsarian C. A cost-effectiveness model of genetic testing for the evaluation of families with hypertrophic cardiomyopathy. *Heart*. 2012;98:625-630.
133. Cobo-Marcos M, Cuenca S, Gámez Martínez JM, Bornstein B, Ripoll Vera T, Garcia-Pavia P. Usefulness of Genetic Testing for Hypertrophic Cardiomyopathy in Real-world Practice. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2013;66:746-747.
134. Richards CS, Bale S, Bellissimo DB, Das S, Grody WW, Hegde MR, et al. ACMG recommendations for standards for interpretation and reporting of sequence variations: Revisions 2007. *Genet Med*. 2008;10:294-300.
135. Duzkale H, Shen J, McLaughlin H, Alfares A, Kelly MA, Pugh TJ, et al. A systematic approach to assessing the clinical significance of genetic variants. *Clin Genet*. 2013;84:453-463.

136. Pugh TJ, Kelly MA, Gowrisankar S, Hynes E, Seidman MA, Baxter SM, et al. The landscape of genetic variation in dilated cardiomyopathy as surveyed by clinical DNA sequencing. *Genet Med*. 2014;16:601-608.
137. Mogensen J, van Tintelen JP, Fokstuen S, Elliott P, van Langen IM, Meder B, et al. The current role of next-generation DNA sequencing in routine care of patients with hereditary cardiovascular conditions: a viewpoint paper of the European Society of Cardiology working group on myocardial and pericardial diseases and members of the European Society of Human Genetics. *Eur Heart J*. 2015;36:1367-1370.
138. Kirk EP, Sunde M, Costa MW, Rankin SA, Wolstein O, Castro ML, et al. Mutations in cardiac T-box factor gene TBX20 are associated with diverse cardiac pathologies, including defects of septation and valvulogenesis and cardiomyopathy. *Am J Hum Genet*. 2007;81:280-291.
139. Posch MG, Gramlich M, Sunde M, Schmitt KR, Lee SHY, Richter S, et al. A gain-of-function TBX20 mutation causes congenital atrial septal defects, patent foramen ovale and cardiac valve defects. *J Med Genet*. 2010;47:230-235.
140. Pan Y, Geng R, Zhou N, Zheng G, Zhao H, Wang J, et al. TBX20 loss-of-function mutation contributes to double outlet right ventricle. *International Journal of Molecular Medicine*. *Int J Mol Med*. 2015;35:1058-1066.
141. Yang SW, Hitz M-P, Andelfinger G. Ventricular septal defect and restrictive cardiomyopathy in a paediatric TNNI3 mutation carrier. *Cardiol Young*. 2010;20:574-576.
142. Rodríguez-Serrano M, Domingo D, Igual B, Cano A, Medina P, Zorio E. Miocardiopatía no compactada familiar asociada con una mutación nueva en el gen de la alfa-actina cardiaca. *Rev Esp Cardiol*. 2014;67:857-859.